

**UJI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIKANKER SECARA *IN VITRO*
DARI EKSTRAK ETANOL LAMUN (*Enhalus acoroides*) DAN TAURIN
DENGAN BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) PADA KULTUR SEL LINE
KANKER PAYUDARA MDA-MB-231**

(Tesis)

Oleh

**Indah Khairunnisa
2427021011**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

UJI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIKANKER SECARA IN VITRO DARI EKSTRAK ETANOL LAMUN (*Enhalus acoroides*) DAN TAURIN DENGAN BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) PADA KULTUR SEL LINE KANKER PAYUDARA MDA-MB-231

Oleh

Indah Khairunnisa

Kanker payudara jenis triple negatif (TNBC) memiliki sifat yang sangat agresif karena tidak memiliki reseptor hormon estrogen (ER), progesteron (PR), dan HER-2. Pengembangan obat antikanker saat ini sudah banyak dilakukan, yaitu dengan menggunakan bahan alam untuk mengurangi sifat toksisitas dari obat sintetik. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker, yaitu lamun *Enhalus acoroides* serta Taurin yang termasuk jenis asam amino. *Enhalus acoroides* diketahui mengandung senyawa bioaktif yang dapat bersifat sitotoksik terhadap sel kanker, begitu pula dengan taurin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat toksisitas, sitotoksik, dan antiproliferasi ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan Taurin terhadap lini sel kanker payudara MDA-MB-231. Metode penelitian yang digunakan, yaitu uji fitokimia, analisis FTIR (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*), uji aktivitas antioksidan DPPH, uji toksisitas BSLT, uji sitotoksik dan uji antiproliferasi WST-8. Berdasarkan uji fitokimia dan FTIR, ekstrak etanol *Enhalus acoroides* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, dan fenolik. Ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan Taurin memiliki nilai LC_{50} 461,576 ppm dan 632,886 ppm termasuk kategori sedang dan lemah. Lalu, berdasarkan uji sitotoksik dan uji antiproliferasi terhadap lini sel kanker payudara TNBC MDA-MB-231 ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan Taurin memiliki nilai IC_{50} masing-masing >2000 ppm dan tidak memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap sel MDA-MB-231.

Kata kunci: Antikanker, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Enhalus acoroides*, Taurin, Sel MDA-MB-231, Kanker Payudara

ABSTRACT

TOXICITY AND IN VITRO ANTICANCER ACTIVITY TEST OF SEAGRASS (*Enhalus acoroides*) ETHANOL EXTRACT AND TAURINE WITH BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) AND IN BREAST CANCER CELL LINE CULTURE MDA-MB-231

By

Indah Khairunnisa

Triple negative breast cancer (TNBC) has a very aggressive characteristic because it does not have estrogen (ER), progesterone (PR), and HER-2 hormone receptors. The development of anticancer drugs is currently being carried out, by using natural ingredients to reduce the toxicity of synthetic drugs. One of the natural ingredients that has potential as an anticancer, is seagrass *Enhalus acoroides* and Taurine which is a type of amino acid. *Enhalus acoroides* is known to contain bioactive compounds that can be cytotoxic to cancer cells, as well as taurine. This study aims to determine the toxicity, cytotoxic, and antiproliferative properties of ethanol extracts of *Enhalus acoroides* and Taurine against breast cancer cell line MDA-MB-231. The research methods used were phytochemical test, FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy) analysis, DPPH antioxidant activity test, BSLT toxicity test, cytotoxic and antiproliferative test with WST-8. Based on phytochemical and FTIR tests, ethanol extracts of *Enhalus acoroides* contain alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid, saponin, and phenolic. Ethanol extracts of *Enhalus acoroides* and Taurine have LC₅₀ values of 461.576 ppm and 632.886 ppm categorized as moderate and weak. Then, based on the cytotoxic test and antiproliferative test against TNBC breast cancer cell line MDA-MB-231, the ethanol extracts of *Enhalus acoroides* and Taurine have IC₅₀ values of >2000 ppm respectively and do not have antiproliferative activity against MDA-MB-231 cells.

Keywords: Anticancer, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Enhalus acoroides*, Taurine, MDA-MB-231 cells, Breast cancer

**UJI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIKANKER SECARA *IN VITRO*
DARI EKSTRAK ETANOL LAMUN (*Enhalus acoroides*) DAN TAURIN
DENGAN BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) PADA KULTUR SEL LINE
KANKER PAYUDARA MDA-MB-231**

Oleh

INDAH KHAIRUNNISA

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS**

Pada

**Program Studi Magister Biologi
Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Tesis

: **UJI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIKANKER
SECARA *IN VITRO* EKSTRAK ETANOL LAMUN
(*Enhalus acoroides*) DAN TAURIN DENGAN BSLT
(*Brine Shrimp Lethality Test*) PADA KULTUR
SEL LINE KANKER PAYUDARA MDA-MB-231**

Nama Mahasiswa

: **Indah Khairunnisa**

NPM

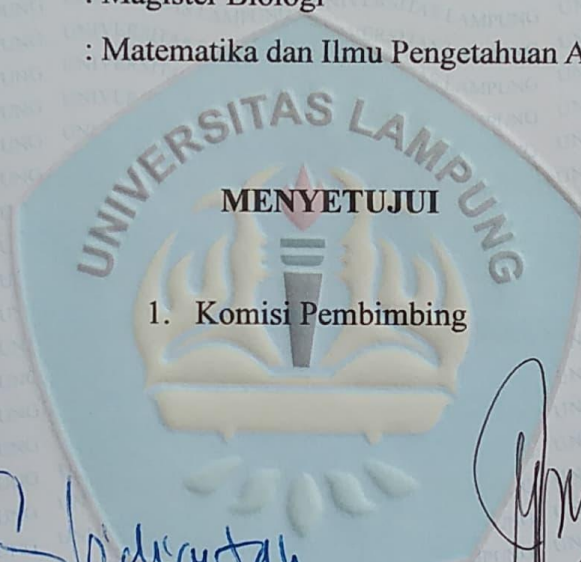
: 2427021011

Program Studi

: Magister Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Endang Linirin Widiastuti'.

Prof. Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.
NIP 196106111986032001

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Nuning Nurcahyani'.

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 196603051991032001

2. Koordinator Program Studi Magister Biologi

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Nuning Nurcahyani'.

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 196603051991032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Prof. Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.**

Sekretaris : **Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**

Penguji
Bukan Pembimbing I : **Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed.**

Penguji
Bukan Pembimbing II : **Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP 197110012005011002

3. Direktur Program Pascasarjana

Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.
NIP 196403261989021001

Tanggal Lulus Ujian Tesis : **19 Desember 2025**

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Indah Khairunnisa
NPM : 2427021011
Prodi : Magister Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa tesis saya yang berjudul: **“Uji Toksisitas dan Aktivitas Antikanker secara *In Vitro* Ekstrak Etanol Lamun (*Enhalus acoroides*) dan Taurin dengan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) pada Kultur Sel Line Kanker Payudara MDA-MB-231”**.

Dengan ini menyatakan bahwa baik gagasan, tulisan, data, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 19 Desember 2025
Yang Menyatakan,



Indah Khairunnisa
NPM. 2427021011

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Gading Rejo pada tanggal 16 Maret 2002 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Purnomo, S.Pt. dan Ibu Dwi Ningsih. Penulis dasar penulis ditempuh di MI-At-Taufieq, kemudian pada tahun 2012 penulis pindah dan melanjutkan pendidikan di SDN 8 Gading Rejo hingga lulus pada tahun 2014. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Jayanti dan lulus pada tahun 2017.

Selanjutnya, penulis menempuh Pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Kab. Tangerang dengan jurusan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan menyelesaikannya pada tahun 2020. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam melalui jalur SNMPTN dan berhasil menyelesaikan studi sarjana pada tahun 2024.

Pada tahun 2024, penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang magister di Program Studi Magister Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

MOTO

“Dan Dia mendapatimu sebagai seorang yang bingung, lalu Dia memberikan petunjuk”

[Q.S. Ad-Duha: 7]

“Jika seseorang meninggal dunia, maka terputuslah amalannya kecuali tiga perkara (yaitu): sedekah jariyah, ilmu yang bermanfaat, dan do’a anak yang sholeh”

[H.R. Muslim No. 1631]

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan mengucap rasa syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat, karunia, hidayah, dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.

Penulis persembahkan karya ini untuk:

Kedua orang tua tercinta, Bapak Purnomo S.Pt. dan Ibu Dwi Ningsih atas doa yang tidak pernah terputus, kasih sayang yang tulus, dan kesabaran yang tak terbatas dalam setiap langkah yang penulis lalui

Kedua adik penulis, Fakhri Aditya Purnomo dan Ihsan Hadi Purnomo, serta keluarga besar saya yang selalu menjadi penguat semangat dalam setiap proses yang penulis jalani

Bapak dan Ibu dosen yang dengan ketulusan hati dan kesabaran dalam memberikan ilmu yang bermanfaat yang Insya Allah menjadi amal jariyah.

Sahabat baik dan rekan seperjuangan penulis yang telah kebersamai, memberikan semangat, bantuan, dan dukungan kepada penulis

Serta kepada almamater tercinta, Universitas Lampung, yang telah menjadi tempat penulis menimba ilmu

Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan menjadi amal kebaikan bagi semua pihak yang terlibat

SANWACANA

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Uji Toksisitas dan Aktivitas Antikanker secara *In Vitro* dari Ekstrak Etanol Lamun (*Enhalus acoroides*) dan Taurin dengan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) pada Kultur Sel Line Kanker Payudara MDA-MB-231”** sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Magister Sains di Universitas Lampung. Selama penulisan tesis, penulis menyadari keterbatasan kemampuan dan pengetahuan yang dimiliki sehingga penulis membutuhkan dukungan dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Purnomo, S.Pt. dan Ibu Dwi Ningsih yang selalu mendoakan kesuksesan, membantu, memberikan dukungan, dan semangat kepada penulis
2. Ibu Prof. Endang Linirin Widiastuti, Ph.D. selaku Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberikan ilmu, arahan, masukan, kritik, nasihat, dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan baik
3. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing II dan Koordinator Program Studi Magister Biologi yang telah membimbing, memberikan arahan, masukan dan kritik sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan baik.
4. Ibu Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed. selaku Dosen Pembahas I yang telah memberikan masukan dan saran konstruktif yang sangat membantu penyusunan tesis.
5. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed. selaku Dosen Pembahas II yang telah memberikan kritik dan rekomendasi ilmiah untuk menyusun tesis.

6. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung
8. Bapak Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si. selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung
9. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Saudara penulis, Om Suranto dan Bulek Listiarum yang telah membantu dan memberikan dukungan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
11. Kedua adik penulis, Fakhri Aditya Purnomo dan Ihsan Hadi Purnomo yang selalu menghibur, memberikan semangat, dan mendoakan kesuksesan penulis
12. Kakak tingkat penulis, Kak Yosi Dwi Saputra yang telah mengarahkan, memberikan nasihat, masukan, semangat dan membantu penulis selama penelitian dan penyusunan tesis.
13. Sahabat baik penulis, Ayu Rahmawati, Anastasia Santaulina, Ade Puspita, Wahyu Apria Ningsih, Wahyu Apria Ningrum, dan Nur Ahilah Yunia yang selalu memberikan semangat, mendengarkan keluh kesah, dan menemani penulis dalam suka duka
14. Seluruh teman-teman Program Studi Magister Biologi Angkatan 2024, Nabila Farahdhia, Nabila Muharrani Fahda, Azahra Putri Najla, Tarisa Livia Hr, Ayu Fikri Damayanti, Mentari Aulia Snapal, Gilang Pratama Indra Putra Duarsa, Amalia Sekar Kusumawardhani, dan (alm) Septi Putri Wandasari atas kebersamaan, dukungan, semangat, dan pengalaman selama masa studi.

Penulis sadar bahwa tesis ini masih jauh dari kata kesempurnaan. Penulis berharap tesis ini dapat menjadi referensi bagi pembaca yang akan melakukan penelitian selanjutnya.

Bandar Lampung, 19 Desember 2025

Penulis

Indah Khairunnisa

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
MOTO	ix
PERSEMBAHAN.....	x
SANWACANA.....	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Kerangka Pikir	6
1.6 Hipotesis.....	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 <i>Enhalus acoroides</i>	8
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Enhalus acoroides</i>	8
2.1.2 Senyawa Bioaktif <i>Enhalus acoroides</i>	10
2.2 Karsinogenesis	11

2.3 Kanker Payudara	13
2.4 Taurin	15
2.5 Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	17
2.6 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8	19
III. METODE PENELITIAN	21
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2 Alat dan Bahan.....	21
3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian	22
3.4 Pelaksanaan Penelitian	25
3.4.1 Pembuatan Ekstrak Etanol <i>Enhalus acoroides</i>	25
3.4.2 Uji Fitokimia	26
3.4.3 Identifikasi Senyawa menggunakan Metode FTIR (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)	27
3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	28
3.4.5 Penetasan Telur <i>Artemia salina</i>	29
3.4.6 Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	29
3.4.7 Pembuatan Medium Kultur Komplit.....	30
3.4.8 Reaktivasi Sel dari Penyimpanan.....	30
3.4.9 Subkultur Sel (<i>Passage</i>).....	30
3.4.10 Pemanenan dan Penghitungan Sel MDA-MB-231	31
3.4.11 Preparasi Bahan Uji dan Kontrol	32
3.4.12 Pembuatan Sediaan <i>Seeding</i>	33
3.4.13 Seeding Sel dalam 96-Well Plate	34
3.4.14 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8	34
3.4.15 Uji Antiproliferasi dengan Metode WST-8	35
3.5 Diagram Alir.....	37
3.6 Analisis Data	38
3.6.1 Uji Fitokimia	38
3.6.2 Identifikasi Senyawa Hasil FTIR.....	38
3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	38

3.6.4 Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	39
3.6.5 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8	39
3.6.6 Uji Antiproliferatif dengan Metode WST-8	40
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Hasil	41
4.1.1 Determinasi Lamun	41
4.1.2 Ekstraksi dan Rendemen	41
4.1.3 Hasil Uji Fitokimia.....	42
4.1.4 Hasil Analisis FTIR.....	42
4.1.5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	45
4.1.6 Hasil Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	47
4.1.7 Hasil Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8	48
4.1.8 Hasil Uji Antiproliferatif dengan Metode WST-8	50
4.2 Pembahasan.....	53
4.2.1 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol <i>Enhalus acoroides</i>	53
4.2.2 Analisis FTIR Ekstrak Etanol <i>Enhalus acoroides</i>	55
4.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	56
4.2.4 Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	58
4.2.5 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8	59
4.2.6 Uji Antiproliferatif dengan Metode WST-8	63
V. SIMPULAN DAN SARAN	66
5.1 Simpulan	66
5.2 Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN.....	81

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rancangan uji aktivitas antioksidan	22
Tabel 2. Rancangan uji toksisitas	23
Tabel 3. Rancangan uji sitotoksik	23
Tabel 4. Rancangan uji antiproliferatif.....	24
Tabel 5. Prosedur uji fitokimia	26
Tabel 6. Hasil ekstraksi <i>Enhalus acoroides</i>	41
Tabel 7. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	42
Tabel 8. Hasil analisis FTIR ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	43
Tabel 9. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	45
Tabel 10. Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT	47
Tabel 11. Hasil uji sitotoksik dengan metode WST-8.....	49
Tabel 12. Hasil uji antiproliferatif dengan metode WST-8.....	51
Tabel 13. Data hasil uji BSLT ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	95
Tabel 14. Uji ANOVA ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	95
Tabel 15. Hasil uji LSD ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	96
Tabel 16. Hasil analisis nilai probit ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	97
Tabel 17. Data hasil uji BSLT taurin	98
Tabel 18. Uji ANOVA taurin	98
Tabel 19. Hasil uji LSD taurin.....	99
Tabel 20. Hasil analisis nilai probit taurin	100

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi <i>Enhalus acoroides</i>	9
Gambar 2. Mekanisme karsinogenesis	12
Gambar 3. Struktur kimia taurin	16
Gambar 4. <i>Artemia salina</i>	18
Gambar 5. Diagram alir penelitian	37
Gambar 6. Spektrum gelombang FTIR ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	44
Gambar 7. Perbandingan nilai IC ₅₀ antioksidan	46
Gambar 8. Perbandingan nilai LC ₅₀ toksisitas	48
Gambar 9. Viabilitas sel MDA-MB-231 dalam perlakuan yang berbeda (%)	50
Gambar 10. Kurva regresi ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i> terhadap persentase inhibisi DPPH	92
Gambar 11. Kurva regresi taurin terhadap persentase inhibisi DPPH.....	93
Gambar 12. Lokasi pengambilan lamun, Pantai Ketapang	101
Gambar 13. Lamun <i>Enhalus acoroides</i>	101
Gambar 14. Proses kering angin	101
Gambar 15. Simplisia <i>Enhalus acoroides</i>	101
Gambar 16. Maserasi dengan etanol 96%	101

Gambar 17. Filtrasi maserasi	101
Gambar 18. Filtrat dipekatkan dengan <i>rotary evaporator</i>	102
Gambar 19. Ekstrak pasta <i>Enhalus acoroides</i>	102
Gambar 20. Hasil uji alkaloid	102
Gambar 21. Hasil uji fenolik	102
Gambar 22. Hasil uji saponin	102
Gambar 23. Hasil uji steroid	102
Gambar 24. Hasil uji tanin	103
Gambar 25. Hasil uji terpenoid	103
Gambar 26. Hasil uji flavonoid	103
Gambar 27. Penimbangan DPPH	104
Gambar 28. Penimbangan asam askorbat	104
Gambar 29. Preparasi sampel untuk uji antioksidan	104
Gambar 30. Pengukuran absorbansi	104
Gambar 31. Hasil uji antioksidan ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	104
Gambar 32. Hasil uji antioksidan taurin	104
Gambar 33. Hasil uji antioksidan asam askorbat	105
Gambar 34. Larutan stok	105
Gambar 35. Telur <i>Artemia salina</i> merk “Supreme Plus”	105
Gambar 36. Penetasan telur <i>Artemia salina</i>	105
Gambar 37. Uji BSLT	105
Gambar 38. Uji BSLT ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	106
Gambar 39. Uji BSLT taurin	106
Gambar 40. Pengamatan di bawah mikroskop	106
Gambar 41. <i>Artemia salina</i> hidup	106
Gambar 42. <i>Artemia salina</i> mati	106
Gambar 43. Sel MDA-MB-231	107
Gambar 44. Inkubator CO ₂	107

Gambar 45. Pemanenan sel MDA-MB-231	107
Gambar 46. Sentrifugasi sel MDA-MB-231	107
Gambar 47. Hasil sentrifugasi	107
Gambar 48. <i>Seeding</i> sel MDA-MB-231 ke dalam <i>well plate</i>	107
Gambar 49. Persiapan bahan uji dan kontrol.....	108
Gambar 50. Perlakuan uji sitotoksik dan antiproliferatif	108
Gambar 51. Pemberian reagen CCK-8	108
Gambar 52. Pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis	108
Gambar 53. Sel MDA-MB-231 waktu inkubasi 24 jam.....	108
Gambar 54. Sel MDA-MB-231 waktu inkubasi 48 jam.....	108
Gambar 55. Sel MDA-MB-231 waktu inkubasi 72 jam.....	109

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker termasuk salah satu penyakit mematikan yang menjadi permasalahan kesehatan utama di seluruh dunia. Berdasarkan data yang diperoleh pada tahun 2020 dari *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN), diketahui bahwa terdapat 19,3 juta kasus kanker dan 10 juta kasus kematian akibat kanker di seluruh dunia (Sung dkk., 2021). Lalu, pada tahun 2022, terdapat sekitar 20 juta kasus kanker dengan 9,7 juta kasus kematian akibat kanker di seluruh dunia. Sebagian besar kasus kanker (sekitar 56,1%) diperkirakan terjadi di Benua Asia. Hal ini dikarenakan populasi Benua Asia yang lebih besar dibandingkan dengan benua lainnya. Kanker paru-paru menjadi jenis kanker yang paling banyak terjadi dengan 2,4 juta kasus dan 1,8 juta kasus kematian. Lalu, diikuti kanker payudara dengan 2,3 juta kasus dan 665.684 kasus kematian (Bray dkk., 2024).

Kasus kanker di Indonesia pada tahun 2020 mencapai 396.914 kasus kanker dan 234.511 kasus kematian akibat kanker. Data terakhir yang diperoleh pada tahun 2022 diketahui bahwa terdapat 408.661 kasus kanker dan 242.988 kasus kematian akibat kanker. Jenis kanker yang paling banyak terjadi di Indonesia, yaitu kanker payudara (16,2%), kanker paru-paru (9,5%), kanker serviks (9%), kanker kolorektal (8,7%), dan kanker hati (5,8%) (GLOBOCAN, 2022). Faktor yang menyebabkan kasus kanker semakin meningkat tiap tahunnya seperti perubahan gaya hidup yang tidak sehat, polusi, radiasi, kebiasaan merokok, kondisi lingkungan, dan pola makan yang kurang baik.

Kanker payudara menjadi salah satu jenis kanker yang paling banyak terjadi di seluruh dunia, termasuk Indonesia. Pada tahun 2022 terdapat sejumlah 66.271 kasus kanker payudara pada wanita dan sebagian kecil pada pria (GLOBOCAN, 2022). Usia, jenis kelamin, faktor genetik, dan hormon termasuk faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya kanker payudara (Aisha dkk., 2025). Karakteristik dari terjadinya kanker payudara dapat ditandai dengan pertumbuhan sel abnormal pada jaringan epitel payudara sehingga akan terbentuk benjolan (Ikhuoria dan Bach, 2018). Semakin meningkatnya jumlah kasus kanker selain disebabkan oleh beberapa faktor juga disebabkan karena keterlambatan diagnosis sehingga kanker telah mencapai stadium akhir dan sulit untuk diobati (Bray dkk., 2024).

Secara umum, kanker disebabkan karena pembelahan sel yang tidak terkontrol hingga dapat menyebar ke jaringan lainnya. Sel kanker yang sudah menyebar ke jaringan normal lain yang ada disekitarnya disebut dengan metastasis (Jadhav dan Babar dkk., 2021). Terdapat beberapa jenis kanker yang bersifat agresif, seperti kanker payudara TNBC. Kanker payudara TNBC memiliki karakteristik pertumbuhan sel yang invasif, berkembang dengan cepat, dan sulit untuk ditangani dibanding dengan jenis kanker payudara pada umumnya (Gaol dkk., 2023). Hal ini dikarenakan, jenis kanker payudara TNBC tidak memiliki reseptor terhadap estrogen, progesteron, dan (*Human Epidermal Receptor 2*) HER-2 sehingga membuat jenis kanker ini menjadi lebih agresif dan sulit untuk diobati. Tingkat kelangsungan hidup penderita kanker payudara triple negatif mencapai 4%-20%. Saat ini, jenis pengobatan untuk jenis kanker payudara triple negatif hanya sebatas operasi dan juga kemoterapi (Pajewska dkk., 2025).

Pada umumnya, pengobatan kanker meliputi operasi pengambilan jaringan kanker, kemoterapi, atau radiologi. Metode tersebut semakin menunjukkan keefektifan yang terbatas. Beberapa jenis toksisitas dapat terjadi akibat dari pengobatan kemoterapi. Contohnya seperti 5-fluorouracil dapat

menyebabkan mielotoksisitas, doxorubicin menyebabkan toksisitas jantung dan ginjal, bleomisin menyebabkan toksisitas paru-paru (Bajpai dkk., 2024). Saat ini, mulai dikembangkan pengobatan yang memanfaatkan bahan alam, seperti lamun. Hal ini dikarenakan lamun memiliki senyawa aktif fenolik dan antioksidan alami yang dapat memicu terjadinya apoptosis pada sel kanker (Khan dkk., 2019).

Enhalus acoroides termasuk salah satu jenis lamun yang memiliki peran penting dalam ekosistem laut. Hal ini dikarenakan *Enhalus acoroides* merupakan produsen dalam rantai makanan laut dan juga sebagai habitat bagi biota laut. Saat ini, *Enhalus acoroides* banyak digunakan sebagai objek penelitian karena memiliki potensi sebagai antibakteri, antifungi, antifouling, antioksidan, dan antikanker (Dewi dkk., 2017). Potensi yang dimiliki oleh *Enhalus acoroides* disebabkan kandungan metabolit primer dan sekunder yang dikandungnya, yaitu karbohidrat, protein, alkaloid, fenolik, tanin, saponin, flavonoid, monoterpene, dan sesquiterpene (Windyaswari dkk., 2019).

Potensi antioksidan yang dimiliki oleh *Enhalus acoroides* dibuktikan melalui penelitian yang dilakukan oleh Sami dkk (2020) bahwa ekstrak etanol *Enhalus acoroides* memiliki nilai IC_{50} sebesar 38,008 $\mu\text{g/ml}$ terhadap radikal ABTS yang termasuk antioksidan sangat kuat. Lalu, ekstrak etanol *Enhalus acoroides* terhadap radikal DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) memiliki nilai IC_{50} sebesar 747,78 $\mu\text{g/ml}$ dan termasuk antioksidan lemah (Bareta dkk., 2025). Selain berpotensi sebagai antioksidan, *Enhalus acoroides* juga diketahui berpotensi sebagai antikanker. Hal ini dibuktikan oleh Ahmed dkk (2022) terhadap sel line HepG2 dan MCF-7. Ekstrak hydro-alkohol 60% *Enhalus acoroides* memiliki nilai IC_{50} sebesar 112,20 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel line HepG2 dan 101,60 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel line MCF-7 sehingga dapat disimpulkan bahwa *Enhalus acoroides* bersifat sitotoksik dan berpotensi sebagai agen antikanker terhadap sel line HepG2 dan MCF-7 penyebab kanker hati dan kanker payudara.

Selain lamun, terdapat jenis asam amino yang juga diketahui berpotensi sebagai agen antikanker, yaitu Taurin. Taurin dapat disintesis dari metionin atau sistein di hati. Pada umumnya, taurin dapat ditemukan pada sel neuron di sistem saraf pusat dan sel otot rangka. Sumber taurin lainnya, yaitu dapat ditemukan pada daging, ikan, dan *seafood*, serta minuman berenergi. Taurin berperan dalam proses fisiologi tubuh, seperti perkembangan fetus, fungsi paru-paru, fungsi mitokondria, pertahanan antioksidatif, homeostasis Ca^{2+} (Surarak dkk., 2021). Selain itu, taurin juga diketahui memiliki efek antikanker dengan mengatur molekul yang berkaitan dengan apoptosis, antiinflamasi, daya antioksidan, dan mengatur sistem imunitas dengan cara meningkatkan ekspresi gen p53 dan menekan pertumbuhan tumor sehingga dapat menjadi agen terapeutik yang menjanjikan bagi penyakit kanker (Okano dkk., 2023).

Aktivitas toksisitas yang terkandung dalam suatu senyawa dapat dibuktikan dengan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji toksisitas dengan metode BSLT berdasarkan pada kematian hewan uji *Artemia salina* sebanyak 50% atau *lethal concentration* 50 (LC_{50}) dari keseluruhan populasi setelah diberikan senyawa. Prinsip yang digunakan pada pengujian dengan metode BSLT ini berdasarkan pada ilmu toksikologi dimana semakin tinggi dosis maka senyawa tersebut semakin toksik. Uji toksisitas dengan metode BSLT telah banyak dilakukan untuk menguji suatu senyawa yang diketahui mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antikanker (Aksono dkk., 2022).

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dibuktikan aktivitas antikanker yang terdapat pada *Enhalus acoroides* dan taurin melalui uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan uji sitotoksik terhadap lini sel kanker MDA-MB-231 yang merupakan lini sel kanker payudara triple negatif. Uji toksisitas sebagai uji awal dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) karena *Artemia salina* yang digunakan sebagai hewan uji memiliki sifat yang mudah untuk digunakan, membutuh biaya yang tidak banyak, dan dapat digunakan untuk menguji

sampel dalam jumlah besar dengan hasil yang dapat dipercaya (Araya dkk., 2024).

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas toksisitas ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin pada uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)?
2. Bagaimana aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara MDA-MB-231 setelah pemberian ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin?
3. Bagaimana aktivitas antiproliferasi pada sel kanker payudara MDA-MB-231 setelah pemberian ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Membuktikan adanya aktivitas toksisitas pada ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)
2. Membuktikan adanya aktivitas sitotoksik dari pemberian ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin terhadap sel kanker payudara MDA-MB-231
3. Menentukan waktu aktivitas antiproliferatif setelah pemberian ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin terhadap sel kanker payudara MDA-MB-231.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada *Enhalus acoroides* sebagai agen antikanker, khususnya kanker payudara.

2. Memberikan informasi yang bermanfaat untuk pengembangan obat alternatif kanker payudara dengan menggunakan *Enhalus acoroides*.

1.5 Kerangka Pikir

Kanker merupakan penyakit yang menjadi salah satu penyebab kematian di seluruh dunia. Kasus kanker semakin meningkat tiap tahunnya. Hal ini dapat dikarenakan adanya perubahan gaya hidup menjadi tidak sehat, kondisi lingkungan, faktor genetik, dan juga kurangnya kesadaran masyarakat untuk deteksi dini. Kanker payudara menjadi jenis kanker yang paling banyak terjadi. Pertumbuhan sel yang abnormal pada jaringan epitel payudara menjadikan terbentuknya benjolan pada payudara. Pada kanker payudara TNBC yang termasuk jenis kanker agresif karena tidak memiliki reseptor terhadap hormon estrogen, progesteron, dan HER-2 sehingga sulit untuk diobati. Jika memiliki reseptor terhadap ketiga hormon tersebut, maka kerjanya dapat dihambat agar tidak menyintesis hormon yang dibutuhkan oleh sel kanker payudara untuk tumbuh. Oleh karena itu, pengobatan jenis kanker payudara TNBC tidak memungkinkan untuk dilakukan terapi hormonal melalui penghambatan pada reseptor hormon.

Pengobatan kanker payudara TNBC terbatas pada operasi pengambilan jaringan kanker dan kemoterapi. Akan tetapi, pengobatan tersebut menunjukkan keefektifan yang terbatas karena obat-obatan sintetik dapat menyebabkan toksisitas. Saat ini, mulai dikembangkan obat antikanker yang bersumber dari bahan alam, salah satunya lamun. Lamun *Enhalus acoroides* diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai agen antikanker. Begitu pula dengan salah satu jenis asam amino, yaitu taurin yang juga diketahui memiliki sifat antikanker melalui regulasi protein apoptosis. Hal ini dilakukan untuk meminimalisir efek negatif yang ditimbulkan akibat obat-obatan sintetik dalam kemoterapi sehingga dikembangkan pengobatan alternatif yang berasal dari bahan alam.

Namun, perlu diteliti lebih lanjut efektivitas *Enhalus acoroides* dan taurin sebagai agen antikanker, khususnya kanker payudara TNBC. Oleh karena itu, dilakukanlah penelitian ini untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin sebagai antikanker pada sel kanker payudara MDA-MB-231.

1.6 Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin dapat memengaruhi kelangsungan hidup *Artemia salina* pada uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)
2. Pemberian ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin dapat bersifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara MDA-MB-231.
3. Pemberian ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin dapat bersifat antiproliferatif terhadap sel kanker payudara MDA-MB-231.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Enhalus acoroides*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Enhalus acoroides*

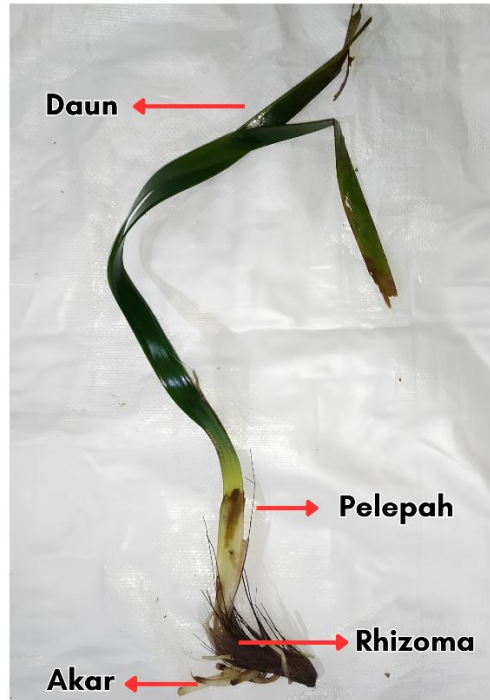
Berikut klasifikasi *Enhalus acoroides* menurut Cronquist (1981) dan sistem APG II (2003):

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Alismatales
Suku	: Hydrocharitaceae
Marga	: <i>Enhalus</i>
Spesies	: <i>Enhalus acoroides</i> (L.f.) Royle

Enhalus acoroides termasuk jenis lamun yang memiliki ciri khas dan dapat dengan mudah diidentifikasi karena memiliki morfologi yang besar. Adapun, morfologi dari *Enhalus acoroides* dapat dilihat pada Gambar 1. Pada bagian rhizoma, terdapat rambut-rambut berwarna hitam dengan akar yang banyak (Rawung dkk., 2018). Hal ini memungkinkan *Enhalus acoroides* untuk tumbuh pada substrat berlumpur, berpasir, celah-celah batu, serta patahan terumbu karang (Zurba, 2018).

Umumnya, akar *Enhalus acoroides* memiliki rata-rata panjang sekitar 12-16,1 cm (Leslida dkk., 2024). Daun *Enhalus acoroides* berbentuk seperti pita dengan warna hijau gelap serta ujung daun yang membulat dan bergerigi (Rahman dkk., 2022). Panjang daun

Enhalus acoroides berkisar 23,3-71,2 cm dan lebar daunnya mencapai 1,2 cm (Leslida dkk., 2024).



Gambar 1. Morfologi *Enhalus acoroides*

Enhalus acoroides memiliki toleransi yang tinggi terhadap perubahan lingkungan, seperti suhu dan nutrisi. Oleh karena itu, *Enhalus acoroides* digunakan sebagai indikator terhadap perubahan suhu dan nutrisi yang bervariasi di habitat lautnya (Artika dkk., 2020). Lamun berkembang biak melalui dua cara, yaitu secara vegetatif dengan menggunakan tunas atau rhizoma dan juga secara generatif melalui penyerbukan yang dilakukan di dalam air atau di permukaan air (Zurba, 2018). Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan lamun, yaitu suhu, salinitas, kedalaman, kecepatan arus, kekeruhan, dan substrat (Rahman dkk., 2022).

Kisaran suhu normal yang dibutuhkan oleh lamun untuk melakukan proses fisiologis, yaitu sekitar 28-30°C. Pertumbuhan tertinggi *Enhalus acoroides* terjadi pada suhu tinggi dengan perairan dangkal karena intensitas cahaya yang dibutuhkan oleh

Enhalus acoroides untuk melakukan proses fotosintesis. *Enhalus acoroides* tumbuh pada substrat berdasar lumpur, pasir, dan pasir dengan pecahan karang yang selalu tergenang dengan air untuk menjaga keberlangsungan hidupnya (Zurba, 2018).

2.1.2 Senyawa Bioaktif *Enhalus acoroides*

Enhalus acoroides mengandung berbagai macam senyawa bioaktif yang berpotensi dalam bidang biomedis. Ekstrak etil asetat *Enhalus acoroides* diketahui mengandung sekitar 30 senyawa bioaktif setelah dilakukan analisis GC-MS, diantaranya 1-nonadecene (17,15%), n-tetracosanol-1 (11,48%), 1-octadecene (10,06%), 2-pentadecanone (7,87%), behenyl alcohol (7,33%), 17-pentatriacontane (4,84%), triacontane (4,25%), tetratetracontane (4,17%), dan butylated hydroxytoluene (2,09%). Senyawa-senyawa tersebut berpotensi sebagai antibakteri, anti-inflamasi, anti-tuberkulosis, antikanker, antioksidan, antifungi, pelembab, anti-asma, dan untuk pengobatan kolesterol (Amudha dkk., 2018).

Pada ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96%, *Enhalus acoroides* diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, terpenoid, polifenol, saponin, dan steroid. Berdasarkan analisis GC-MS, terdapat 9 jenis senyawa yang didominasi oleh senyawa golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan polifenol. Lalu, pada analisis FTIR juga menunjukkan gugus spesifik, seperti gugus hidroksil (-OH), amina (-NH), -CH alifatik, dan aromatis pada gugus fungsi (Mahmiah dkk., 2023).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Widiastuti dkk (2024), diketahui bahwa ekstrak etanol *Enhalus acoroides* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponins, dan steroid. Senyawa-senyawa tersebut diketahui bersifat sitotoksik terhadap sel *HeLa*

karena mampu menurunkan viabilitas sel dengan nilai IC_{50} sebesar 645,96 ppm. Selain itu, pada uji antiproliferatif yang dilakukan, ekstrak etanol *Enhalus acoroides* memiliki nilai *doubling time* yang lebih lama dibandingkan dengan kontrol sel. Hal ini menunjukkan bahwa, ekstrak etanol *Enhalus acoroides* mampu menghambat proliferasi sel *HeLa*. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dapat bersifat sebagai anti-angiogenik, antiproliferatif, dan dapat menghambat aktivitas enzim topoisomerase (Habli dkk., 2017).

Kemudian, pada ekstrak metanol *Enhalus acoroides* diketahui mengandung senyawa saponin, tanin, dan flavonoid yang juga bersifat sitotoksik terhadap sel *HeLa*. Nilai IC_{50} yang dimiliki ekstrak metanol *Enhalus acoroides* terhadap sel *HeLa* yaitu sebesar 112 ppm. Selain itu, ekstrak metanol *Enhalus acoroides* juga bersifat antiproliferatif (Widiastuti dkk., 2019). Hal ini dikarenakan mekanisme aksi yang dimiliki oleh senyawa bioaktif sebagai penghalang transduksi sinyal dengan reseptor yang dapat meneruskan sinyal proliferasi ke sitoplasma. Dengan demikian, dapat menghambat proliferasi sel melalui penghambatan fase S pada siklus sel dan juga menghambat protein anti apoptosis (Ismaryani dkk., 2018).

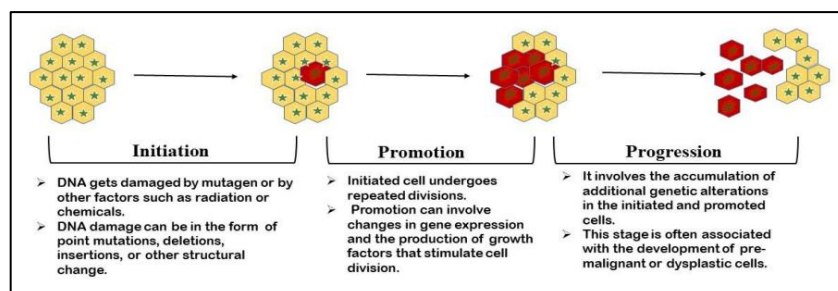
2.2 Karsinogenesis

Karsinogenesis merupakan proses dimana sel normal berubah menjadi sel kanker melalui berbagai mekanisme. Perubahan sel normal menjadi sel kanker terjadi melalui 3 tahap. Pertama, yaitu tahap inisiasi dimana sel normal mengalami mutasi yang tidak dapat diperbaiki dan sebagai respon terhadap faktor onkogenik (Zhou dkk., 2025). Pada tahap ini juga terjadi penghambatan apoptosis baik secara intrinsik maupun ekstrinsik (Chahar dkk., 2020). Terdapat beberapa faktor yang dapat memicu terjadinya tahap inisiasi, yaitu faktor kimia, fisika, dan biologi. Faktor kimia seperti

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) yang dapat ditemukan pada asap rokok dan beberapa bahan makanan. Faktor fisika seperti radiasi sinar ultraviolet (UV) dan radiasi ion yang dapat menyebabkan kerusakan DNA secara langsung. Lalu, faktor biologi seperti virus onkogenik yang dapat memicu perubahan onkogenik (Bhat dkk., 2024).

Kedua, yaitu tahap promosi, dimana sel mulai mengalami ekspansi klonal selektif yang berubah menjadi sel prakanker dengan proliferasi sel yang berkelanjutan dan tidak terkendali (Zhou dkk., 2025). Jumlah ROS yang meningkat juga membantu mengaktivasi karsinogen melalui reaksi langsung dengan DNA untuk menghasilkan DNA oksidatif (Chahar dkk., 2020). Selama tahap ini, tingkat proliferasi sel menjadi sangat tinggi dibandingkan dengan sel normal karena diatur oleh promoter tumor yang dapat mengaktivasi jalur pensinyalan (Bhat dkk., 2024).

Ketiga, yaitu tahap progresi dimana sel prakanker berubah menjadi tumor ganas (Zhou dkk., 2025). Sel-sel prakanker mengalami perubahan genetik dan epigenetik tambahan yang meningkatkan tingkat keganasan, invasivitas, dan metastasis. Salah satu ciri dari tahap ini adalah akumulasi genom yang tidak stabil sehingga menyebabkan mekanisme perbaikan DNA menjadi rusak atau bagian *checkpoint* pada siklus sel tidak berfungsi. Akibatnya, terjadi mutasi pada DNA dan kelainan pada kromosom. Selain itu, pada tahap ini sel kanker akan menginvasi jaringan yang ada di sekitarnya dan bermetastasis (Bhat dkk., 2024). Mekanisme karsinogenesis sel kanker dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme karsinogenesis (Bhat dkk., 2024)

Senyawa karsinogen dapat memengaruhi keseimbangan redoks di dalam sel dan menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Kerusakan oksidatif dianggap sebagai faktor utama terjadinya mutasi pada DNA yang menyebabkan ketidakstabilan genom. DNA yang mengalami mutasi titik, delesi, insersi, atau translokasi akan menyebabkan teraktivasi onkogen dan menonaktifkan gen penekan tumor (*tumour suppressor gene*) dan berpotensi memulai atau meningkatkan karsinogenesis (Smith dkk., 2016). Pada sel normal, terdapat proto-onkogen yang mengatur diferensiasi dan proliferasi sel normal. Ketika, terjadi mutasi maka akan berubah menjadi onkogen yang berperan dalam patogenesis kanker. Setiap proto-onkogen memiliki promotor yang memungkinkan gen tersebut untuk bereaksi dengan sinyal fisiologis (Kontomanolis dkk., 2020).

Selama karsinogenesis, terjadi ketidakseimbangan ion pada sel tumor yang menyebabkan membran sel terdepolarisasi, meningkatkan volume sel, dan menginduksi terjadinya proliferasi. Potensial membran sel yang rendah pada sel tumor menyebabkan reorganisasi plasma lipid dan mengaktifasi jalur pensinyalan yang berkaitan dengan membran untuk menstimulasi masuknya kation kalsium ke dalam sel yang berperan penting dalam proses proliferasi. Akumulasi ion negatif pada sel tumor akibat depolarisasi akan menstimulasi proses karsinogenesis (Zamay dkk., 2025).

2.3 Kanker Payudara

Kanker payudara terjadi karena proliferasi sel pada payudara tidak terkendali. Hal ini bisa disebabkan oleh beberapa faktor, seperti makanan, lingkungan, dan faktor genetik. Sekitar 5% kasus kanker payudara berdasarkan faktor genetik akibat adanya mutasi yang menyebabkan pertumbuhan tumor pada jaringan payudara. Gen yang berperan dalam menurunkan kanker payudara, yaitu BRCA1 dan BRCA2 yang bermutasi sehingga menyebabkan terjadinya kanker (Cuthrell and Tzenios, 2023). Selain itu, hormon estrogen dan androgen juga berperan penting dalam perkembangan kanker payudara. Kadar estradiol dan estron yang tinggi

ditemukan pada wanita yang menderita kanker payudara. Estrogen disintesis oleh ovarium dan beberapa kelenjar adrenal pada tubuh wanita. CYP19 atau aromatase merupakan enzim yang berperan dalam metabolisme steroid androgen C19 menjadi estrogen. mRNA CYP19 dapat ditemukan pada sel epitel unit duktal lobular terminal dan sel stroma payudara manusia normal. Aktivitas CYP19 yang tinggi dapat meningkatkan resiko kanker payudara melalui penyediaan estrogen untuk aktivasi metabolisme dan stimulasi mitosis sel pada epitelium payudara. Metode farmakologi yang dapat dilakukan sebagai pengobatan kanker payudara adalah dengan menghalangi aktivitas CYP19 (Starek-Swiechowicz dkk., 2021). Oleh karena itu, wanita memiliki resiko yang tinggi terhadap kanker payudara karena kadar estrogen yang lebih tinggi dan sel-sel payudara sangat rentan terhadap keseimbangan hormon estrogen dan progesteron (Lukasiewicz, dkk., 2021).

Kanker payudara dapat dibedakan menjadi 3 jenis, yaitu: sub tipe positif hormon atau mengekspresikan reseptor estrogen (ER⁺) dan progesteron (PR⁺), sub tipe positif *Human Epidermal Receptor 2* (HER2⁺) dan sub tipe triple negatif (ER⁻, PR⁻, HER2⁻) (Juarez dkk., 2020). Kanker payudara jenis triple negatif memiliki cara pengobatan yang lebih sulit daripada jenis lain karena tidak memiliki ketiga jenis reseptor. ER dapat berperan sebagai biomarker prognostik dan juga biomarker prediktif untuk pengobatan kanker payudara dan terapi endokrin. Hubungannya berkaitan dengan ekspresi PR karena dipengaruhi oleh ER dan interaksi antara PR – progesteron dapat mengikat dan mengubah situs pengikatan kromatin pada ER sehingga pengaturan gen yang terlibat dalam proliferasi sel menjadi seimbang (Barzaman dkk., 2020).

Kanker payudara TNBC lebih sering terjadi pada wanita yang belum mengalami menopause (premenopausal). Profil sel kanker yang lebih agresif, yaitu tinggi kadar p53 dan Ki67 dengan ekspresi Bcl-2 yang rendah, memiliki ukuran sel tumor yang lebih besar dengan tingkat mitosis sel yang tinggi. Pada umumnya, wanita dengan ras Afrika-Amerika dan

Hispanik beresiko lebih tinggi terhadap kanker payudara jenis triple negatif (Almansour, 2022). Faktor yang menyebabkan kanker payudara TNBC lebih resisten dan sulit untuk diobati karena mudah untuk beradaptasi terhadap sistem imun dan cepat mengembangkan resistensi terhadap agen kemoterapi (Wein and Loi, 2017).

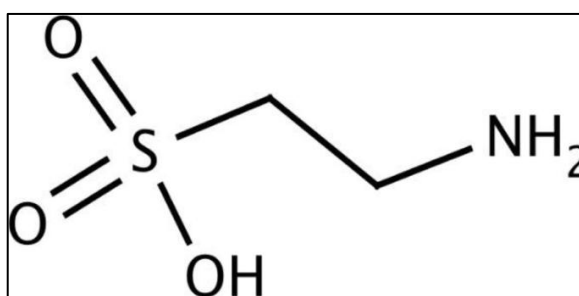
Terdapat 6 jenis sub tipe molekuler pada kanker payudara TNBC berdasarkan jalur pensinyalan, karakteristik genetik dan epigenetik, serta kondisi imun, yaitu (Pont dkk., 2024):

1. Basal-Like 1 (BL1), yang ditandai dengan peningkatan ekspresi gen yang berkaitan dengan siklus sel dan respon kerusakan DNA
2. Basal-Like 2 (BL2), yang ditandai dengan peningkatan jalur sinyal faktor pertumbuhan, glikolisis, dan glukoneogenesis.
3. Mesenkimal (M), yang menunjukkan ekspresi tinggi pada gen yang berkaitan dengan motilitas dan transisi epitel-mesenkimal
4. Mesenkimal Stem-Like (MSL), yang menunjukkan kurangnya ekspresi gen proliferasi tetapi kaya akan gen yang berkaitan dengan sel batang mesenkimal
5. Immunomodulatory (IM), yang ditandai dengan ekspresi yang tinggi pada gen yang terlibat dalam proses sel imun, seperti keberadaan antigen dan jalur transduksi sinyal imun
6. Luminar Androgen Receptor (LAR), yang mengekspresikan gen yang terlibat dalam sintesis steroid, metabolisme androgen atau estrogen, dan metabolisme porfirin.

2.4 Taurin

Taurin atau 2-aminoethansulfonic acid ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$) merupakan asam amino non-esensial yang tidak terlibat dalam proses sintesis protein karena tidak memiliki gugus karboksil sehingga tidak bisa melakukan glukoneogenesis dan bukan merupakan sumber energi langsung. Struktur kimia taurin dapat dilihat pada Gambar 3. Taurin banyak ditemukan pada jaringan tubuh mamalia, seperti retina, otot rangka, hati, platelets, dan

leukosit. Karena terdiri dari asam sulfonik membuat taurin bersifat sangat asam dan merupakan asam amino zwitterionik (Walliullah dkk., 2023). TauT merupakan transporter taurin yang berperan penting dalam penyerapan dan distribusi taurin melintasi membran sel. Pada kondisi pH fisiologis, taurin bertindak sebagai molekul amfifatik dengan gugus asam sulfonik kepala dan gugus amin yang bermuatan positif sebagai ekor (Xu dkk., 2025). Beberapa fungsi fisiologis yang dimiliki oleh taurin, yaitu meliputi antioksidan, antiinflamasi, konjugasi garam empedu, osmoregulasi, stabilitas membran, regulasi volume sel, dan induksi autofagi (Okano dkk., 2023). Taurin melindungi sel dari pengaruh kerusakan yang disebabkan oleh perubahan lingkungan dari luar sel. Selain itu, taurin juga membantu menjaga stabilitas membran sel (Morales-Borges dkk., 2020).



Gambar 3. Struktur kimia taurin

Taurin juga diketahui memiliki sifat antikanker dengan mengatur molekul yang berkaitan dengan apoptosis, meningkatkan kemampuan antiinflamasi dan antioksidan, serta mengatur imunitas tubuh (Okano dkk., 2023). Taurin mampu menginduksi apoptosis dengan cara meningkatkan ekspresi protein pro-apoptosis Bax dan *tumor suppressor gene* p53 sehingga menyebabkan ekspresi protein anti-apoptosis yaitu Bcl-2 ditekan. Apoptosis yang disebabkan oleh taurin bukan hanya berkaitan dengan jalur apoptosis mitokondria tetapi juga berkaitan dengan jalur pensinyalan apoptosis lainnya (Li dkk., 2019). Sebagai makanan, taurin dapat ditemukan pada *seafood*, hati, daging ayam, daging kalkun, susu, kaju, dan telur. Selain itu, taurin juga dapat ditemukan pada minuman berenergi

untuk menambah dan menyediakan energi tambahan dengan dosis taurin umumnya sebesar 30-400 mg/100ml. Taurin juga dapat ditemukan pada ASI untuk mendukung pertumbuhan bayi agar tidak mengalami defisit taurin yang menyebabkan kelainan neurologis (Rais dkk., 2022).

Biosintesis taurin melibatkan asam amino sistein. Pertama, sistein teroksidasi menjadi asam sistein sulfinik oleh enzim sistein dioksigenase. Lalu, enzim asam sistein sulfinik berubah menjadi hipotaurin yang kemudian dioksidasi menjadi taurin. Kedua, sintesis taurin melibatkan sistein yang dikonjugasi dengan koenzim A (CoA) untuk melepaskan sisteamin saat CoA mengalami *turnover*. Proses ini melibatkan enzim 2-aminoetometil dioksigenase yang berperan aktif dalam konversi sisteamin menjadi hipotaurin. Hipotaurin kemudian akan berubah menjadi taurin melalui oksidasi (Waliullah dkk., 2023). Stres pada retikulum endoplasma dapat dinetralkan oleh taurin dan juga kemampuan untuk mencegah permeabilitas membran mitokondria (Rais dkk., 2023). Taurin berperan sebagai antioksidan karena dapat membersihkan ROS sehingga mengurangi pembentukan ROS dan menekan efek berbahaya yang dapat ditimbulkan dari stres oksidatif. Taurin sangat efektif terhadap ROS jenis peroxy radicals ($\text{ROO}^\cdot$), superoxide anions ($\text{O}_2^{\cdot-}$), nitric oxide ($\text{NO}^\cdot$), dan peroxyxynitrite ($\text{ONOO}^\cdot$) (Waliullah dkk., 2023).

2.5 Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui pada dosis berapa suatu senyawa dikatakan toksik. Semua jenis senyawa yang memiliki dosis tinggi dapat menimbulkan efek toksik yang besar. Ketika senyawa tersebut dikurangi dosisnya maka efek toksik yang ditimbulkan dapat berkurang. Oleh karena itu, semua jenis senyawa terutama yang digunakan sebagai obat perlu dilakukan uji toksisitas (Pohan dkk., 2023). Metode yang biasa digunakan dalam pengujian toksisitas adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang menggunakan *Artemia salina* sebagai hewan uji (Suneka and Manoranjan, 2021). *Artemia* merupakan jenis krustasea kecil yang bersifat

halofilik dan tersebar di lingkungan dengan bersalinitas di seluruh dunia kecuali Antartika. *Artemia* biasanya berperan sebagai makanan untuk krustasea besar lain dan juga ikan (Meenatchi dkk., 2024). Pada Gambar 4 dapat dilihat *Artemia salina* di bawah mikroskop.



Gambar 4. *Artemia salina* (Joshua dkk., 2022)

Hasil dari uji toksisitas dengan metode BSLT diketahui berdasarkan *lethal concentration* 50 (LC_{50}) dimana merupakan konsentrasi optimal dari suatu senyawa yang dapat membunuh 50% populasi *Artemia salina*. Semakin rendah nilai LC_{50} maka semakin tinggi efek toksiknya. Keuntungan dari metode BSLT adalah metodenya mudah untuk dilakukan, cepat, dapat dilakukan berulang-ulang, dan tidak membutuhkan biaya yang besar (Aksono dkk., 2022). *Artemia salina* yang mati disebabkan karena senyawa toksik yang masuk melalui mulut larva dan diserap oleh sistem pencernaannya menyebabkan terjadinya kerusakan pada reaksi metabolisme dalam tubuh larva (Wicaksana dkk., 2023).

Artemia salina betina memiliki tingkat kesuburan yang tinggi, yaitu mencapai 250 embrio per telur. Reproduksi dapat berlangsung secara ovovivipar jika kondisi lingkungan salinitas cenderung stabil dan ovipar jika kondisi lingkungan salinitas dan suhu yang ekstrim, hipoksia, kekurangan makanan, periode cahaya yang pendek, dan faktor stres lingkungan lainnya. *Artemia salina* dapat membentuk kista embrio yang dorman pada lingkungan yang ekstrim (Camara, 2020). *Artemia salina*

dewasa memiliki sistem osmoregulasi yang efisien karena memiliki enzim Na^+/K^+ -ATPase yang aktivitasnya akan semakin meningkat seiring meningkatnya salinitas pada lingkungan. Bagian metepopodit pada *Artemia salina* juga merupakan bagian yang berfungsi sebagai pertukaran ion secara aktif untuk pengaturan osmoregulasi dalam tubuh *Artemia salina* (Imene dkk., 2020).

2.6 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan kadar toksisitas yang dimiliki oleh suatu senyawa terhadap sel. Uji sitotoksik merupakan uji yang penting untuk dilakukan dalam pengukuran dan skrining pada sel jaringan secara *in vitro*. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suatu senyawa terhadap proliferasi dan morfologi sel. Pada pengujian antikanker, uji sitotoksik dilakukan untuk mencari obat atau senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan atau menurunkan viabilitas sel (Shafiee dkk., 2021). Viabilitas sel merupakan jumlah sel yang normal atau sehat pada suatu sampel. Selain itu, viabilitas sel merupakan tujuan utama dilakukannya uji sitotoksik karena berkaitan dengan jumlah sel yang masih sehat setelah diberikan suatu senyawa (Kamiloglu dkk., 2020). Uji sitotoksik ditentukan berdasarkan nilai *inhibitory concentration* 50 (IC_{50}) yang merupakan kemampuan suatu senyawa untuk membunuh populasi sel sebanyak 50% (Shafiee dkk., 2021).

Metode WST-8 merupakan salah satu metode yang dapat dilakukan dalam pengujian sitotoksik. WST-8 merupakan garam tetrazolium generasi kedua yang pertama kali disintesis oleh Tominaga. Umumnya, WST-8 digunakan sebagai indikator kromogenik untuk viabilitas sel. Penurunan kadar WST-8 yang berwarna kuning muda oleh sel yang masih hidup akan menghasilkan produk formazan berwarna jingga (Kamiloglu dkk., 2020). Formazan yang terbentuk memiliki absorpsi maksimum pada panjang gelombang 450 nm dikarenakan reduksi WST-8 oleh NAD(P)H (Chamchoy dkk., 2019). WST-8 diketahui lebih sensitif untuk mengukur

viabilitas sel daripada garam tetrazolium lainnya, seperti MTT, MTS, XTT, dan WST-1 (Kamiloglu dkk., 2020).

WST-8 atau juga bisa disebut *Cell Counting Kit-8* (CCK-8) lebih banyak digunakan karena memiliki toksisitas rendah yang memudahkan dalam mempersiapkan sel untuk uji proliferasi secara berturut-turut. Kadar NAD(P)H yang ditunjukkan pada metode WST-8 merupakan respon terhadap aktivitas dehidrogenase dan berkaitan dengan jalur metabolisme glukosa (Fan dkk., 2024). Reagen WST-8 dibuat dari 5 mM WST-8, 0.2 mM 1-methoxy PMS, dan 150 mM NaCl yang dilarutkan dalam air. Suspensi sel diletakkan dalam 96-well plates yang masing-masing sumuran mengandung 100 µl bahan uji. Lalu, plat diletakkan pada lingkungan dengan kondisi suhu 37°C dan kadar kelembaban 5% CO₂ untuk memastikan sel berada dalam kondisi yang optimal. Sel kemudian diinkubasi selama waktu yang ditentukan lalu diberikan 10 µl reagen WST-8. Selanjutnya, plat dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C dan didiamkan selama 2 jam. Setelah itu, sel dapat dihitung absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm (Chaudhry dkk., 2024).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Oktober 2025. Adapun untuk pembuatan ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan uji toksisitas dengan metode BSLT dilaksanakan di Laboratorium Zoologi, FMIPA, Universitas Lampung. Uji fitokimia dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik, FMIPA, Universitas Lampung. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilaksanakan di Laboratorium Botani, FMIPA, Universitas Lampung. Untuk mengetahui gugus fungsi pada senyawa dengan metode FTIR dilaksanakan di UPA Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT), Universitas Lampung. Untuk pengujian sitotoksik dan antiproliferatif pada sel kanker payudara MDA-MB-231 dilaksanakan di Laboratorium Riset Translasi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu *beaker glass*, Erlenmeyer, corong, tabung reaksi, labu ukur, spatula, batang pengaduk, timbangan analitik, *rotary evaporator*, pipet tetes, mikropipet dan mikrotip, pot urin (wadah uji), akuarium, aerator, lampu, kaca pembesar, spektroskopi FTIR, spektrofotometri UV-Vis, akuarium, aerator, lampu, kaca pembesar, *waterbath*, inkubator CO₂, sentrifuge, *flask T25*, *conical tube*, *microtube* 1,5 ml, *96-well plate*, *haemocytometer*, *Laminar Air Flow (LAF) cabinet*, *serological pipet*, *pipet gun*, cawan petri, *object and cover glass*, dan mikroskop.

Adapun bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu lamun *Enhalus acoroides*, etanol 96%, taurin, kertas saring, kloroform, reagen Mayer, serbuk Mg, asam klorida (HCl), asam sulfat (H₂SO₄), besi(III)klorida (FeCl₃), aquades, kalium bromida (KBr), metanol, serbuk DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), alumunium foil, asam askorbat, telur *Artemia salina* “Supreme plus”, styrofoam, lakban hitam, air laut steril, etanol 70%, ragi, kultur sel MDA-MB-231, Cisplatin, media *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI), *Penicillin Streptomycin* 1%, L-glutamat 1%, *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, *Phosphate-Buffered Saline* (PBS), tripsin, *Trypan blue*, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) 100%, dan reagen *Cell Counting Kit-8* (CCK-8).

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

➤ Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Penelitian ini menggunakan RAL 2 x 5 yang terdiri dari 2 jenis bahan uji dan 5 seri konsentrasi, yaitu 250; 500; 750; 1000; dan 1250 ppm dengan pengulangan sebanyak tiga kali dan juga K⁺ Asam askorbat.

Tabel 1. Rancangan uji aktivitas antioksidan

No	Jenis Sampel	Konsentrasi	Ulangan	Keterangan
1	Ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	250; 500; 750; 1000; dan 1250 ppm	3x	Bahan uji 1
2	Taurin	250; 500; 750; 1000; dan 1250 ppm	3x	Bahan uji 2
3	Asam askorbat	2; 4; 6; 8; dan 10 ppm	3x	Kontrol positif (K ⁺)

➤ Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Penelitian ini menggunakan RAL 2 x 6 terdiri dari 2 jenis bahan uji dan 6 seri konsentrasi, yaitu 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm

dengan pengulangan sebanyak lima kali dan juga K- hanya air laut tanpa bahan uji.

Tabel 2. Rancangan uji toksisitas

No	Jenis Sampel	Konsentrasi	Ulangan	Keterangan
1	Ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm	5x	Bahan uji 1
2	Taurin	62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm	5x	Bahan uji 2
3	Air laut	0 ppm	5x	Kontrol negatif (K-)

➤ **Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8**

Penelitian ini menggunakan RAL 2 x 6 yang terdiri dari 2 jenis bahan uji dan 6 seri konsentrasi dan juga dilengkapi dengan 5 jenis kontrol, yaitu: K+ Cisplatin, Kontrol Pelarut (KP), Kontrol Medium Ekstrak (KME), Kontrol Medium (KM), dan Kontrol Sel (KS).

Tabel 3. Rancangan uji sitotoksik

No	Jenis Sampel	Konsentrasi	Ulangan	Keterangan
1	Ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm	3x	Bahan uji 1
2	Taurin	62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm	3x	Bahan uji 2
3	Cisplatin	3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm	3x	Kontrol positif (K+)
4	Pelarut (DMSO)	0,03125%; 0,0625%; 0,125%; 0,25%; 0,5%; dan 1%	2x	Kontrol Pelarut (KP)
5	Medium + Ekstrak	Ekstrak etanol 62,5; 125; <i>Enhalus acoroides</i> 250; 500; 1000; Taurin 2000 ppm	2x	Kontrol Medium Ekstrak (KME)
6	Medium	-	3x	Kontrol Medium (KM)
7	Sel	-	3x	Kontrol Sel (KS)

➤ Uji Antiproliferatif dengan Metode WST-8

Penelitian ini menggunakan RAL 2 x 6 x 3 yang terdiri dari 2 jenis bahan uji, 6 seri konsentrasi, dan 3 waktu inkubasi.

Tabel 4. Rancangan uji antiproliferatif

No	Jenis Sampel	Konsentrasi	Ulangan	Waktu Inkubasi	Keterangan
1	Ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm	3x		Bahan uji 1
2	Taurin	62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm	3x		Bahan uji 2
3	Cisplatin	3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm	3x		Kontrol positif
4	Pelarut (DMSO)	0,03125%; 0,0625%; 0,125%; 0,25%; 0,5%; dan 1%	2x	24; 48; dan 72 jam	Kontrol Pelarut (KP)
5	Medium + Ekstrak	Ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i>	62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm	2x	Kontrol Medium Ekstrak (KME)
		Taurin	62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm	2x	
6	Medium	-	3x		Kontrol Medium (KM)
7	Sel	-	3x		Kontrol Sel (KS)

1. Populasi Sel

Penelitian ini menggunakan suspensi 80.000 sel/mL MDA-MB-231 yang didapat dari Laboratorium Riset, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran. Sel kemudian dikultur pada media RPMI yang ditambahkan *Penicillin Streptomycin* 1%, L-glutamat 1%, dan FBS 10% menurut CCRC (2013).

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, yaitu:

- a. Inklusi, merupakan kriteria sel MDA-MB-231 telah memiliki kemampuan untuk tumbuh mencapai *confluency* 70-80% dan diambil dari induk yang sama
- b. Eksklusi, merupakan kriteria sel MDA-MB-231 yang dalam pengkulturan selama penelitian tidak dapat berkembang atau terjadi kontaminasi.

3. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik yang digunakan untuk mengambil sampel dalam penelitian ini, yaitu *simple random sampling* karena populasi dianggap homogen. Subkultur sel MDA-MB-231 yang *confluency* di dalam sumur diencerkan dengan menggunakan media DMEM sehingga kerapatan sel sekitar 4000 atau 4×10^3 sel MDA-MB-231 tiap sumurannya. Sumur yang telah mengandung lini sel MDA-MB-231 kemudian dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara acak.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Ekstrak Etanol *Enhalus acoroides*

Enhalus acoroides yang diperoleh dari Pantai Ketapang, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir. Kemudian, dikeringanginkan selama ± 3 hari. Setelah kering, *Enhalus acoroides* dihaluskan dengan menggunakan blender hingga diperoleh simplisia. Proses maserasi dilakukan dengan pelarut etanol 96% perbandingan 1:10 selama 3x24 jam. Kemudian, disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara endapan dan filtrat. Filtrat yang sudah disaring dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah itu, ekstrak kental dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40°C selama ± 24 jam hingga diperoleh ekstrak dalam bentuk pasta (Khasana dkk., 2025).

3.4.2 Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh (Kartikasari dkk., 2022) dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Prosedur uji fitokimia

Jenis Uji	Perlakuan	Indikator
Alkaloid	Sebanyak 0,5 mL ekstrak + 5 tetes kloroform + 5 tetes pereaksi Mayer (1 g KI + 20 mL aqades, + 0,271 g HgCl ₂)	Hasil positif menunjukkan warna larutan putih kecoklatan
Flavonoid	Sebanyak 0,5 mL ekstrak + 0,5 g serbuk Mg + 0,5 mL HCl pekat	Hasil positif menunjukkan terbentuknya warna larutan merah, kuning, atau coklat dan terbentuk busa
Steroid	Sebanyak 0,5 mL ekstrak sampel + 2 mL kloroform + 3 mL H ₂ SO ₄	Hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna larutan menjadi biru, ungu, atau hijau
Triterpenoid	Sebanyak 0,5 mL ekstrak sampel + 2 mL kloroform + 3 mL H ₂ SO ₄	Hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna larutan menjadi warna merah atau kuning

Tabel 5. Prosedur uji fitokimia (lanjutan)

Jenis Uji	Perlakuan	Indikator
Tanin	Sebanyak 1 mL ekstrak + 3 tetes larutan FeCl ₃ 10%	Hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna larutan menjadi hitam kebiruan
Saponin	Sebanyak 0,5 mL ekstrak + 5 mL aquades kemudian dikocok selama 30 detik	Hasil positif menunjukkan terbentuknya busa
Fenolik	Sebanyak 1 mL ekstrak + 3 tetes larutan FeCl ₃ 2%	Hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna larutan menjadi hitam kebiruan

3.4.3 Identifikasi Senyawa menggunakan Metode FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsional dari suatu senyawa melalui analisis pita absorbansi sehingga dapat diketahui struktur molekul dan susunan ikatan kimia dari senyawa tersebut. Pada bidang farmasi, FTIR digunakan untuk verifikasi identitas obat, deteksi kontaminan, dan memastikan kualitas dari produk farmasi (Siddique, 2024). Sebanyak 2 mg sampel ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan 198 mg KBr ditimbang dan dihaluskan, lalu dicetak hingga membentuk plat tipis yang transparan. Selanjutnya, sampel dibaca dengan menggunakan Spektroskopi FTIR yang terhubung dengan komputer. Spektrum gelombang yang dihasilkan lalu dibandingkan dengan tabel IR pada penelitian sebelumnya.

3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan untuk mengukur kemampuan antioksidan yang terkandung dalam suatu senyawa untuk menetralkan radikal bebas DPPH. Metode DPPH banyak digunakan karena sederhana, tidak membutuhkan biaya yang banyak, dan pengujiannya cepat (Yamauchi dkk., 2024). Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH yang dilakukan pada penelitian ini mengacu pada Bareta dkk (2025). Pertama, masing-masing sebanyak 200 mg ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan Taurin dilarutkan dalam 100 ml metanol untuk membuat larutan stok 2000 ppm. Selanjutnya, dibuat beberapa tingkat konsentrasi, yaitu 250; 500; 750; 1000; dan 1250 ppm dengan masing-masing pengulangan sebanyak 3 kali. Kemudian, sebanyak 4 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam 100 ml metanol lalu dikocok hingga homogen untuk membuat larutan DPPH 40 ppm. Setelah itu, larutan DPPH disimpan dalam labu takar yang sudah dilapisi dengan alumunium foil dan disimpan pada suhu rendah untuk menjaga kualitas larutan.

Selanjutnya, sebanyak 2 ml larutan DPPH 40 ppm diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah dilapisi dengan alumunium foil. Lalu, sebanyak 2 ml larutan ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan Taurin pada masing-masing konsentrasi ditambahkan ke dalam tabung reaksi berisi larutan DPPH dan dikocok hingga homogen. Untuk kontrol positif (K+) menggunakan asam askorbat dengan konsentrasi 2; 4; 6; 8; dan 10 ppm masing-masing 3 kali pengulangan. Setelah itu, diinkubasi di tempat yang gelap pada suhu 30°C selama 30 menit. Kemudian, diukur absorbansi dari masing-masing sampel dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 514 nm (Souhoka dkk., 2019).

3.4.5 Penetasan Telur *Artemia salina*

Telur *Artemia salina* yang didapat dengan merk dagang “Supreme Plus”. Untuk menetas telur, diperlukan akuarium yang dibagi menjadi 2 bagian, yaitu bagian gelap dan bagian terang. *Styrofoam* yang dilubangi bagian bawahnya dapat digunakan sebagai pembatas pada akuarium. Bagian gelap dibuat dengan cara ditutupi lakban hitam dan bagian terang diberi cahaya lampu yang dilengkapi dengan aerator. Akuarium diisi dengan air laut steril sebanyak 500 ml dan diletakkan pada suhu ruang. Sebanyak 100 mg telur *Artemia salina* dimasukkan ke bagian gelap akuarium lalu dibiarkan selama 48 jam. *Artemia salina* yang telah menetas menjadi larva berusia 48 jam dapat digunakan sebagai hewan uji (Bareta dkk., 2023).

3.4.6 Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Untuk melakukan uji toksisitas perlu membuat larutan stok terlebih dahulu. Sebanyak masing-masing 400 mg ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan Taurin dilarutkan dalam 200 ml etanol 70% untuk membuat larutan stok 2000 ppm. Kemudian, larutan stok dipipet sebanyak 0,16; 0,32; 0,63; 1,25; 2,5; dan 5 ml ke dalam tabung uji untuk membuat konsentrasi uji yang diinginkan. Kontrol negatif hanya dengan air laut dan tidak diberikan bahan uji. Selanjutnya, masing-masing tabung uji diisi oleh 1 ml air laut dan ditambahkan 1 tetes ragi yang dibuat dengan melarutkan 3 mg ragi dalam 5 ml air laut sebagai sumber makanan untuk larva *Artemia salina*. Setelah itu, sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* dimasukkan ke dalam masing-masing tabung uji lalu ditambahkan air laut hingga volumenya mencapai 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm. Untuk pengujian ini dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Selanjutnya, diinkubasi selama 24 jam dan kematian larva *Artemia salina* dihitung dengan

menggunakan bantuan kaca pembesar yang disinari cahaya. Jika tidak terjadi pergerakan pada larva *Artemia salina*, maka dihitung sebagai kematian larva (Khasana dkk., 2025).

3.4.7 Pembuatan Medium Kultur Komplit

Media yang digunakan untuk membiakkan sel MDA-MB-231, yaitu media RPMI yang telah dilakukan *thawing* dalam *waterbath* hingga 45 mL lalu ditambahkan *Penicillin Streptomycin* 1% sebanyak 500 μ L, L-glutamat 1% sebanyak 500 μ L, dan larutan FBS 10% sebanyak 5000 μ L CCRC (2009).

3.4.8 Reaktivasi Sel dari Penyimpanan

Sel MDA-MB-231 dicairkan dengan *waterbath* pada suhu 37°C selama 2-3 menit setelah dikeluarkan dari tangki nitrogen cair. Kemudian, sebanyak 4 ml medium komplit RPMI dimasukkan ke dalam *conical tube*. Setelah itu, ditambahkan suspensi sel sebanyak 1 μ L. Lalu, disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 3 menit untuk memisahkan antara sel dengan medium. Bagian supernatan dibuang karena dianggap limbah, sedangkan bagian yang mengendap merupakan sel. Selanjutnya, resuspensi sel dengan medium komplit RPMI sebanyak 1 mL. Kemudian, dimasukkan ke dalam *flask* T25 sebanyak 1 mL. Lalu, sel diinkubasi dalam inkubator CO₂ hingga sel mencapai konfluensi 80% (CCRC, 2009).

3.4.9 Subkultur Sel (*Passage*)

Sebelum sel bisa digunakan untuk pengujian, perlu dilakukan subkultur setelah reaktivasi. Hal ini dikarenakan untuk memulai pengujian, sel sudah dalam kondisi yang optimal setelah disubkultur sebanyak 2 kali atau minimal pengujian di *Passage* 2

(P2). Subkultur dilakukan setelah sel mencapai kondisi konfluen 80% setelah direaktivasi. Flask T25 berisi sel yang telah diinkubasi dikeluarkan dari inkubator CO₂. Setelah itu, medium RPMI komplit yang terdapat dalam flask T25 dibuang. Kemudian, dicuci dengan menggunakan PBS 1x sebanyak 1 mL. Pencucian dilakukan berulang sebanyak 2 kali. Karena sifat sel MDA-MB-231 yang melekat pada wadah dan juga untuk memisahkan sel yang satu dengan yang lainnya, maka ditambahkan Tripsin 1x sebanyak 1 mL ke dalam flask T25 dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 3 menit. Lalu, medium RPMI komplit ditambahkan ke dalam flask T25 sebanyak 1 mL. Kemudian, semua yang terdapat di dalam flask T25 dipindahkan ke dalam *conical tube*, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 3 menit. Setelah itu, bagian supernatan yang berisi tripsin dan medium RPMI komplit dibuang.

Selanjutnya, medium RPMI komplit ditambahkan kembali sebanyak 1 mL untuk resuspensi sel yang telah disentrifugasi dan dihomogenkan. Kemudian, cawan petri berdiameter 6 cm disiapkan untuk subkultur sel. Sebanyak 3 mL medium RPMI komplit dimasukkan ke dalam cawan petri. Lalu, sebanyak 300 µL suspensi sel diambil dari *conical tube* dan dimasukkan ke dalam cawan petri berisi medium RPMI komplit untuk ditumbuhkan. Setelah itu, cawan petri berisi sel diinkubasi hingga konfluen 80% dalam inkubator CO₂. Hasil dari subkultur pertama setelah reaktivasi sel disebut *Passage 1* (P1). Untuk itu, perlu disubkultur kembali dengan cara yang sama hingga mencapai batas minimal sel untuk diuji, yaitu P2 (Geraghty dkk., 2014).

3.4.10 Pemanenan dan Penghitungan Sel MDA-MB-231

Setelah sel dilakukan subkultur sebanyak 2 kali dan telah mencapai konfluensi 80%, maka dilakukan pemanenan dan penghitungan sel.

Langkah-langkah yang harus dilakukan, yaitu cawan petri yang berisi sel dikeluarkan dari inkubator CO₂. Kemudian, media RPMI komplit yang berada dalam cawan petri dibuang. Lalu, dicuci dengan PBS 1x sebanyak 1 mL dan diulang 2 kali. Setelah itu, sebanyak 1 ml tripsin 1x ditambahkan ke dalam cawan petri dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 3 menit. Kemudian, medium RPMI komplit ditambahkan ke dalam cawan petri sebanyak 1 mL lalu pindahkan ke dalam *conical tube*. Lalu, disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 3 menit. Bagian supernatan yang berisi tripsin dan medium RPMI komplit dibuang. Setelah itu, ditambahkan kembali medium RPMI komplit sebanyak 1 mL untuk resuspensi sel dalam *conical tube* (CCRC, 2013).

Untuk penghitungan sel, sebanyak 10 µL suspensi sel diambil dan dimasukkan ke dalam *conical tube* lain. Lalu, ditambahkan *Trypan blue* sebanyak 10 µL untuk mewarnai sel. Setelah itu, sel dapat dihitung dalam *Haemocytometer*. Sel yang mati akan berwarna biru. Empat kamar hitung dipilih untuk melakukan perhitungan menggunakan *haemocytometer* CCRC (2009).

$$\text{Rataan Sel} = \frac{\text{Jumlah sel semua kamar hitung}}{4}$$

$$\text{Jumlah sel hitung (per mL)} = \frac{\text{Rataan sel} \times \text{faktor pengenceran}}{4} \times 10^4$$

3.4.11 Preparasi Bahan Uji dan Kontrol

Persiapan sampel dilakukan sebelum uji sitotoksik dan uji antiproliferatif dengan membuat larutan stok ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan larutan stok taurin. Untuk membuat larutan stok ekstrak etanol *Enhalus acoroides* 100.000 ppm dengan cara ekstrak ditimbang sebanyak 100 mg. Lalu dilarutkan dengan pelarut DMSO 100% dan air (1:1) masing-masing sebanyak 0,5

mL. Selanjutnya, untuk membuat larutan stok taurin 10.000 ppm dengan cara taurin ditimbang sebanyak 10 mg. Lalu dilarutkan dengan PBS 1x sebanyak 1 mL. Kemudian, masing-masing larutan stok ekstrak dan taurin diencerkan hingga membuat konsentrasi bertingkat yang diinginkan, yaitu 31,25; 62,5; 125; 250; 500; dan 1000 ppm. Hal ini dilakukan karena konsentrasi akhir yang diinginkan akan 2x lebih encer setelah ditambahkan ke dalam *96-well plate* berisi suspensi sel, yaitu 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm sehingga konsentrasi bahan uji dibuat 2x lebih pekat untuk mencapai konsentrasi tersebut.

Selanjutnya, kontrol positif (K+) Cisplatin konsentrasi 2000 ppm dibuat dengan cara cisplatin ditimbang sebanyak 2 mg. Lalu dilarutkan dengan pelarut DMSO 100% 2 mL. Kemudian, diencerkan hingga konsentrasi 1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25; dan 50 ppm sehingga konsentrasi akhir cisplatin setelah ditambahkan ke dalam *96-well plate* berisi suspensi sel, yaitu 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm.

Kemudian, kontrol pelarut (KP) juga perlu dibuat karena ekstrak dilarutkan dalam DMSO. Sediaan DMSO yang dimiliki, yaitu 100% perlu diencerkan dengan medium RPMI komplet hingga konsentrasi 0,03125%; 0,0625%; 0,125%; 0,25%; 0,5%; dan 1%. Konsentrasi DMSO tertinggi per *well* adalah 1%. Hal ini dikarenakan DMSO yang bersifat toksik dan dapat memengaruhi hasil uji (Amalia dkk., 2025).

Ekstrak yang sudah disiapkan dapat diujikan pada lini sel di dalam LAF *cabinet* secara aseptis CCRC (2009).

3.4.12 Pembuatan Sediaan *Seeding*

Sediaan *seeding* dibuat untuk mengetahui berapa jumlah suspensi sel yang dibutuhkan tiap *well* untuk selanjutnya dilakukan uji

sitotoksik dan uji antiproliferatif. Setiap *well* ditanam dengan kerapatan $3-5 \times 10^3$ sel/sumur hingga mencapai konfluensi 70-80% (Amalia dkk., 2025). Berikut perhitungan yang dilakukan untuk membuat sediaan *seeding*:

$$\text{Kebutuhan sel} = \text{Kerapatan sel} \times \text{Jumlah well} \times \text{Jumlah plate}$$

$$\text{Volume sel} = \text{Suspensi sel} \times \text{Jumlah well}$$

$$\text{Kebutuhan sel/mL} = \frac{\text{Kebutuhan sel}}{\text{Total volume medium}}$$

$$\text{Perhitungan pengenceran} = \frac{\text{Kebutuhan sel}}{\text{Jumlah stok sel yang diperoleh}}$$

3.4.13 Seeding Sel dalam 96-Well Plate

Setelah membuat sediaan *seeding*, sel kemudian ditanam (*seeding*) ke dalam 96-*well plate*. Sebanyak 50 μL suspensi sel dimasukkan ke dalam masing-masing *well*, kecuali *well* untuk kontrol medium ekstrak (KME) dan kontrol medium (KM). Kemudian, 96-*well plate* diperiksa di bawah mikroskop untuk memastikan semua *well* telah berisi sel. Setelah itu, diinkubasi dengan inkubator CO_2 hingga sel mencapai konfluensi 80% untuk selanjutnya dapat dilakukan uji sitotoksik dan uji antiproliferatif.

3.4.14 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8

Suspensi sel yang sebelumnya telah ditanam (*seeding*) sebanyak 50 μL dalam 96-*well plate* dan telah mencapai konfluensi 80% dapat dilakukan uji sitotoksik dengan metode WST-8. Bahan uji, yaitu ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin dengan konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; 500; dan 1000 ppm serta K+ Cisplatin dengan konsentrasi 1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25; dan 50 ppm masing-masing sebanyak 50 μL dimasukkan ke dalam *well* yang

telah berisi 50 μL sehingga konsentrasinya menjadi 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm untuk kedua bahan uji dan untuk K⁺ Cisplatin konsentrasinya menjadi 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm. Setelah itu, diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam.

Setelah 24 jam, 96-*well plate* dikeluarkan dari dalam inkubator dan semua isi yang ada di dalam *well* diganti atau dibuang terlebih dahulu untuk mengurangi terjadinya bias selama pengukuran. Lalu, medium RPMI komplet ditambahkan sebanyak 100 μL ke dalam masing-masing *well*. Selanjutnya, reagen CCK-8 ditambahkan sebanyak 10 μL ke dalam masing-masing *well*. Kemudian, diinkubasi kembali dalam inkubator CO₂ selama 2 jam. Setelah itu, absorbansi sel dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 450 nm dan 620 nm sesuai dengan reagen CCK-8 yang digunakan (Amalia dkk., 2025).

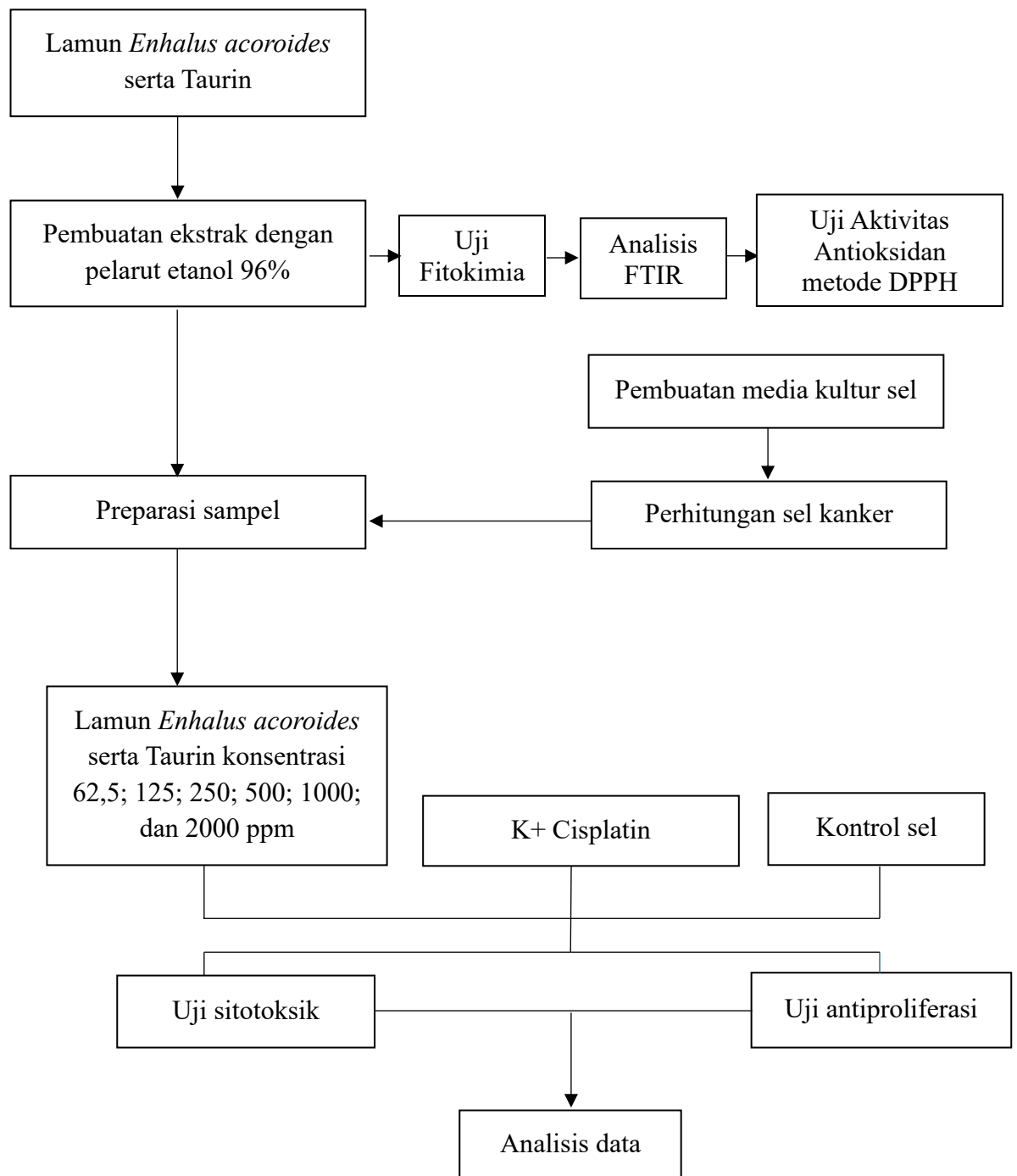
3.4.15 Uji Antiproliferatif dengan Metode WST-8

Uji antiproliferatif atau *doubling time* dilakukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan sel untuk menjadikan jumlahnya menjadi dua kali dari jumlah awal. 96-*well plate* yang telah berisi 50 μL suspensi sel diberikan bahan uji ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin dengan konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; 500; dan 1000 ppm serta K⁺ Cisplatin dengan konsentrasi 1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25; dan 50 ppm masing-masing sebanyak 50 μL dimasukkan ke dalam *well* yang telah berisi 50 μL sehingga konsentrasinya menjadi 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm untuk kedua bahan uji dan untuk K⁺ Cisplatin konsentrasinya menjadi 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm. Setelah itu, diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24, 48, dan 72 jam.

Setelah 24, 48, dan 72 jam, 96-*well plate* dikeluarkan dari dalam inkubator dan semua isi yang ada di dalam *well* diganti atau

dibuang terlebih dahulu untuk mengurangi terjadinya bias selama pengukuran. Lalu, medium RPMI komplet ditambahkan sebanyak 100 μL ke dalam masing-masing *well*. Selanjutnya, reagen CCK-8 ditambahkan sebanyak 10 μL ke dalam masing-masing *well*. Kemudian, diinkubasi kembali dalam inkubator CO_2 selama 2 jam (Amalia dkk., 2025). Setelah itu, absorbansi sel dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 450 nm dan 620 nm sesuai dengan reagen CCK-8 yang digunakan. Selanjutnya, dilakukan proses analisis statistik mengetahui viabilitas sel pada waktu inkubasi yang berbeda CCRC (2013).

3.5 Diagram Alir



Gambar 5. Diagram alir penelitian

3.6 Analisis Data

3.6.1 Uji Fitokimia

Hasil positif dari uji fitokimia ditunjukkan dengan adanya perubahan warna, terbentuknya endapan, atau busa setelah ditambahkan senyawa atau reagen tertentu. Hasil dari uji fitokimia yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

3.6.2 Identifikasi Senyawa Hasil FTIR

Senyawa yang sudah diidentifikasi dengan metode FTIR untuk mengetahui gugus fungsinya akan diperoleh berupa bilangan gelombang melalui analisis deskriptif.

3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Hasil dari uji aktivitas antioksidan dianalisis melalui nilai absorbansi yang diperoleh setelah pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis. Persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus (Susanto dkk., 2018):

$$\%Aktivitas\ antioksidan = \frac{Abs.kontrol - Abs.perlakuan}{Abs.kontrol} \times 100\%$$

Kategori aktivitas antioksidan dapat digolongkan menjadi (Molyneux, 2004):

- Sangat Kuat = $IC_{50} < 50$ ppm
- Kuat = IC_{50} 50-100 ppm
- Sedang = IC_{50} 100-150 ppm
- Lemah = IC_{50} 150-200 ppm
- Sangat Lemah = $IC_{50} > 200$ ppm

3.6.4 Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT ditentukan dengan *lethal concentration* 50 (LC₅₀). Perhitungan persentase kematian larva *Artemia salina* menggunakan rumus (Nerdy dkk., 2021):

$$\%Kematian\ larva = \frac{Jumlah\ larva\ mati}{Jumlah\ larva\ total} \times 100\%$$

Tetapi, jika pada kontrol ada larva yang mati, maka %kematian dapat dihitung dengan rumus (Widyasari dkk., 2018):

$$\%Kematian\ larva = \frac{Jumlah\ larva\ mati\ pada\ uji - Jumlah\ larva\ mati\ pada\ kontrol}{Jumlah\ larva\ uji\ awal\ pada\ larutan\ uji} \times 100\%$$

Setelah itu, analisis nilai probit dengan menggunakan *software* SPSS untuk mendapatkan nilai LC₅₀.

Tingkat toksisitas senyawa dikategorikan menjadi (Hamidi, 2014):

- Toksisitas tinggi = LC₅₀ 0-100 ppm
- Toksisitas sedang = LC₅₀ 100-500 ppm
- Toksisitas rendah = LC₅₀ 500-1000 ppm
- Tidak Toksik = LC₅₀ > 1000 ppm

3.6.5 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8

Hasil uji sitotoksik dengan metode WST-8 ditentukan dengan menghitung persentase viabilitas sel kanker MDA-MB-231. Data absorbansi yang diperoleh dari uji sitotoksik dikonversi ke dalam bentuk persen sel hidup dengan rumus:

$$\%Viabilitas\ Sel = \frac{(Absorbansi\ perlakuan - Absorbansi\ kontrol\ media)}{(Absorbansi\ kontrol\ sel - Absorbansi\ kontrol\ media)} \times 100\%$$

Kemudian analisis nilai probit untuk menentukan nilai IC₅₀ dengan menggunakan *software GraphPad Prism* yang mengacu pada *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC, 2013).

3.6.6 Uji Antiproliferatif dengan Metode WST-8

Hasil uji antiproliferatif dengan metode WST-8 dianalisis menggunakan *software Microsoft Excel* untuk mendapatkan nilai *doubling time*. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah sel hidup pada perlakuan ekstrak dan taurin dengan waktu inkubasi yang berbeda. Nilai *doubling time* dari setiap perlakuan dapat dihitung dengan rumus.

$$Doubling\ time = \frac{Y - A}{B} \times 100\%$$

Keterangan: Y = Log (2x jumlah sel hidup awal)

A = Intersep

B = Slope

Nilai *doubling time* yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan nilai *doubling time* pada kontrol sel untuk mengetahui efek antiproliferatif yang dimiliki oleh bahan uji.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada uji toksisitas dengan metode BSLT nilai LC_{50} ekstrak etanol *Enhalus acoroides* sebesar 461,576 ppm termasuk kategori toksisitas sedang dan nilai LC_{50} taurin sebesar 632,886 ppm termasuk toksisitas kategori rendah.
2. Pada uji sitotoksik ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin tidak bersifat sitotoksik terhadap sel MDA-MB-231 karena nilai IC_{50} ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin masing-masing sebesar >2000 ppm, sedangkan pada K+ Cisplatin sebesar 3,6 ppm.
3. Pada uji antiproliferatif ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin tidak bersifat antiproliferatif terhadap sel MDA-MB-231 karena nilai *doubling time* yang tidak berbeda jauh dengan kontrol sel, sedangkan K+ Cisplatin bersifat antiproliferatif terhadap sel MDA-MB-231.
4. Namun, ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada metode DPPH, yaitu dengan nilai IC_{50} sebesar 858,43 ppm dan 955,56 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun tidak bersifat sitotoksik dan antiproliferatif terhadap sel MDA-MB-231, tetapi ekstrak etanol *Enhalus acoroides* dan taurin dapat bersifat sebagai antioksidan dan mencegah terjadinya kanker.

5.2 Saran

Adapun saran dari penelitian ini, yaitu perlu dilakukan uji dengan menggunakan pelarut lain yang lebih optimal dan dapat menarik semua senyawa bioaktif yang terkandung dalam *Enhalus acoroides*. Kemudian, perlu dilakukan pemurnian senyawa bioaktif khusus yang terkandung dalam *Enhalus acoroides* yang memang berpotensi sebagai antikanker untuk menghindari terjadinya sinergisme antara senyawa bioaktif. Selain itu, untuk mengoptimalkan potensi antikanker yang dimiliki oleh *Enhalus acoroides* dan taurin terhadap sel MDA-MB-231, perlu dilakukan kombinasi dengan menggunakan nanopartikel logam agar efek antikanker bekerja secara spesifik terhadap sel kanker dan meminimalisir efeknya terhadap sel normal yang berada di sekitar sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, N., Kumar, V., Alphonso, J., Chandrasekar, S., and Boopathy, U. 2022. Phytochemical Screening, Antioxidant Potential, Isolation and Characterization of Bioactive Compound from *Enhalus acoroides*. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*. 13(9): 4118-4131.
- Aisha, A., Pratiwi, S. E., Trianto, H. F., Suhardiman, E. R., and Fitrianingrum, I. 2025. Clinical and Pathological Characteristics of Breast Cancer Patients at Soedarso Hospital Pontianak. *Indonesian Journal of Cancer*. 19(2): 161-168.
- Adhitya, B. H., and Hidayati, D. N. 2025. Cytotoxicity and Antiproliferative Activities of Ethanolic Peel Extract of *Pyrus malus* L. on T47D Cells. *Farmasains: Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian*. 12(2): 56-63.
- Aksono, E. B., Latifah, A. C., Suwanti, L. C., Haq, K. U., and Pertiwi, H. 2022. Clove Flower Extract (*Syzygium aromaticum*) has Anticancer Potential Effect Analyzed by Molecular Docking and *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Hindawi: Veterenary Medicine International*. 2022: 1-7.
- Almansour, N. M. 2022. Triple-Negative Breast Cancer: A Brief Review about Epidemiology, Risk Factors, Signaling Pathways, Treatment and Role of Artificial Intelligence. *Front. Mol. Biosci*. 9: 1-15.
- Amalia, R., Mirdayani, E., Hanifah, S., Hadad, N. D., Sahidin, I., dan Diantini, A. 2025. Sitotoksisitas Ekstrak Metanol dan n-Heksan dari Spons Laut *Stylotella aurantium* dan *Callyspongia aerizusa* terhadap Lini Sel HeLa. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. 14(2): 78-85.
- Amudha, P., Jayalakshmi, M., Pushpabharathi, N., and Vanitha, V. 2018. Identification of Bioactive Components in *Enhalus acoroides* Seagrass Extract by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 11(10): 313-317.
- Anwar, K., Lokana, F. M., dan Budiarti, A. 2022. Antioxidant Activity of Dewandaru Leaf (*Eugenia uniflora* L.) Ethanol Extract and Determination of Total Flavonoid and Phenolic Content. *Jurnal Ilmiah Sains*. 22(2): 161-171.

- Araya, X., Okumu, M., Duran, G., Gomez, A., Gutierrez, J. M., and Leon, G. 2024. Assessment of The *Artemia salina* Toxicity Assay as a Substitute of The Mouse Lethality Assay in The Determination of Venom-Induced Toxicity and Preclinical Efficacy Antivenom. *Toxicon: X*. 22: 1-6.
- Artika, S. R., Ambo-Rappe, R. Teichberg, M., Moreira-Saporiti, A., and Viana, I. G. 2020. Morphological and physiological Responses of *Enhalus acoroides* Seedlings Under Varying Temperature and Nutrient Treatment. *Front. Mar. Sci.* 7(325): 1-19.
- Asih, E. N. N., Ni'amah, S. H., Insafitri, Kartika, A. G. D., Pratiwi, W. S. W., dan Nuzula, N. I. 2025. Profil Kandungan Fitokimia Ekstrak Lamun *Enhalus acoroides* sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio harveyi* dari Perairan Sapeken-Madura. *Journal of Marine Research*. 14(1): 145-156.
- Bajpai, P., Usmani, S., Kumar, R., and Prakash, O. 2024. Recent Advances in Anticancer Approach of Traditional Medicinal Plants: A Novel Strategy for Cancer Chemotherapy. *Intelligent Pharmacy*. 2: 291-304.
- Bareta, A. R., Widiastuti, E. L., dan Nurcahyani, N. 2023. Uji Sitotoksitas Taurin dan Ekstrak Etanol Makroalga Cokelat dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Berita Biologi*. 22(2): 153-157.
- Bareta, A. R., Widiastuti, E. L., Nurcahyani, N., Roiska, R., and Leni, Y. 2025. Antioxidant Potential of Bioactive Compounds in Ethanol Extracts of Seagrass and Macroalgae from Lampung Waters. *Fisheries Journal*. 15(1): 466-473.
- Barzaman, K., Karami, J., Zarei, Z., Hosseinzadeh, A., Kazemi, M. H., Moradi-Kalbolandi, S., Safari, E., and Farahmand, L. 2020. Breast Cancer: Biology, Biomarkers, and Treatments. *International Immunopharmacology*. 84: 1-10.
- Bhat, A. S., Ahmed, M., Abbas, K., Mustafa, M., Alam, M., Salem, M. A. S., Islam, S., Tantry, I. Q., Singh, Y., Fatima, M., Usmani, N., Faraz, M., Afeef, M., and Habib, S. 2024. Cancer Initiation and Progression: A Comprehensive Review of Carcinogenic Substances, Anti-Cancer Therapies, and Regulatory Frameworks. *Asian Journal of Research in Biochemistry*. 14(4): 111-125.
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soejomatarum, I., Jemal, A. 2024. Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 74(3): 229-263.
- Camara, M. R. 2020. After The Gold Rush: A Review of *Artemia* Cyst Production in Northeastern Brazil. *Aquaculture Reports*. 17: 1-6.

- Cancer Chemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM. 2009. Perhitungan Sel.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Cancer Chemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM. 2009. Prosedur Tetap Kerja In Vitro,* Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Cancer Chemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM. 2009. Uji Sitotoksik Metode MTT.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Cancer Chemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM. 2013. Prosedur Uji Sitotoksik dengan Metode MTT (3-4-,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difenil tetrazoliumbromida).* Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Cancer Chemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM. 2013. Sel Kanker,* Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Chahar, A., Chahar, N., Kabirai, A., and Gupta, J. 2020. Chemical carcinogenesis: A brief review on mechanism & metabolism. *Journal of Oral Medicine, Oral Surgery, Oral Pathology and Oral Radiology.* 6(3): 120-124.
- Chamchoy, K., Pakotiprapha, D., Pumirat, P., Leartsakulpanich, U., and Boonyuen, U. 2019. Application of WST-8 based Colorimetric NAD(P)H Detection for Quantitative Dehydrogenase Assays. *BMC Biochemistry.* 20(4): 1-14.
- Chaudhry, G., Safdar, Z. N., Begum, S., Akim, A. M., Sung, Y. Y., and Muhammad, T. S. T. 2024. Cytotoxicity Assays for Cancer Drug Screening: Methodological Insights and Considerations for Reliable Assessment in Drug Discovery. *Brazilian Journal of Biology.* 84: 1-13.
- Chen, S. H., and Chen, L. 2025. Clinical Implications of Taurine in Breast Cancer. *Biochemistry and Biophysics Reports.* 44: 1-10.
- Choi, E. J., Tang, Y., Lee, C. B., Cheong, S. H., Sung, S. H., Oh, M. R., Jang, S. Y., Park, P. J., and Kim, E. K. 2015. Effect of Taurine on *In Vitro* Migration of MCF-7 and MDA-MB-231 Human Breast Carcinoma Cells. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 803: 191-201.
- Cordova, B. N. T., Magdugo, R. P., and Won, M. E. Q. 2022. Biochemical Characterization and Bioactivity of The Tape Seagrass *Enhalus acoroides* (L.f) Royle from Gosoon, Carmen, Agusan Del Norte, Philippines. *Annals of Studies in Science and Humanities.* 4(2): 8-17.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants.* Columbia University Press. New York.

- Cuthrell, K. M. and Tzenios, N. 2023. Breast Cancer: Updated and Deep Insights. *International Research Journal of Oncology*. 6(1): 104-118.
- Das, J., Singh, T. A., Lalruatsangi, R., Sil, P. S. 2024. Synthesis of Nanohybrid Consisting of Taurine Derived Carbon Dots and Nanoceria for Anticancer Applications. *Toxicol Rep*. 13: 1-11.
- De Luca, A., Pierno, S., and Camerino, D. C. 2015. Taurine: The Appeal of a Safe Amino Acid for Skeletal Muscle Disorders. *Journal of Translational Medicine*. 13(243): 1-18.
- Dewi, C. S. U., Kasitowati, R. D., and Siagian, J. A. 2017. Phytochemical compounds of *Enhalus acoroides* from Wanci Island (Wakatobi) and Talango Island (Madura) Indonesia. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*. 137: 1-5.
- Elekofehinti, O. O., Iwaloye, O., Olawale, F., and Ariyo, E. O. 2021. Saponins in Cancer Treatment: Current Progress and Future Prospects. *Pathophysiology*. 28(2): 250-272.
- Fan, J., Schiemer, T., Vaska, A., Jahed, V., and Klavins, K. 2024. Cell Via Cell Viability Assay Changes Cellular Metabolic Characteristics by Intervening with Glycolysis and Pentose Phosphate Pathway. *Chemical Research in Toxicology*. 37: 208-211.
- Furdak, P., Kut, K., Bartosz, G., and Bartosz, I. S. 2025. Comparison of Various Assays of Antioxidant Activity/Capacity: Limited Significance of Redox Potentials of Oxidants/Indicators. *Int. J. Mol. Sci*. 26(15): 1-13.
- Gaol, D. L. H. L., Rizki, K. A., and Soemitro, M. P. 2023. Incidence Rate and Clinical Characteristics of Triple Negative Breast Cancer Patients in Hasan Sadikin Hospital, for The Last Five Years. *Journal of Social Research*. 2(5): 1558-1562.
- Geraghty, R. J., Davis, A. C., Davis, J. M., Downward, J., Freshney, R. I., Knezevic, I., Badge, R. L., Masters, J. R. W., Meredith, J., Stacey, G. N., Thraves, P., and Vias, M. 2014. Guidelines for The Use of Cell Lines in Biomedical Research. *British Journal of Cancer*. 111: 1021-1046.
- Gest, C., Joimel, U., Huang, L., Pritchard, L. L., Petit, A., Dulong, C., Buquet, C., Hu, C. Q., Mirshahi, P., Laurent, M., Lafeve, F. F., Cazin, L., Vannier, J. P., Lu, H., Soria, J., Li, H., Varin, R., and Soria, C. 2013. Rac3 Induces a Molecular Pathway Triggering Breast Cancer Cell Aggressiveness: Differences in MDA-MB-231 and MCF-7 Breast Cancer Cell Lines. *BMC Cancer*. 13(63): 1-14.
- Ghosh, S. 2019. Cisplatin: The First Metal Based Anticancer Drug. *Bioorganic Chemistry*. 88: 102925.

GLOBOCAN, 2022

<https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheet.pdf>

- Habli, Z., Toumieh, G., Fatfat, M., Rahal, O. N., and Gali-Muhtasib, H. 2017. Emerging Cytotoxic Alkaloids in the Battle against Cancer: Overview of Molecular Mechanisms. *Molecules*. 22(2): 1-22.
- Hamidi, M. R., Jovanova, B., Panovska, T. K. 2014. Toxicological Evaluation of The Plant Product using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*. 60: 9-18.
- Huang, Z., Yu, P., and Tang, J. 2020. Characterization of Triple-Negative Breast Cancer MDA-MB-231 Cell Spheroid Model. *Onco Targets Ther.* 13: 5395-5405.
- Ikhuoria, E. B. and Bach, C. 2018. Introduction to Breast Carcinogenesis Symptoms, Risks Factors, Treatment and Management. *EJERS: European Journal of Engineering Research and Science*. 3(7): 58-66.
- Imene, S., Guy, C., Hachem, N., Adnane, K., Catherine, L. N. 2020. Osmoregulatory Performance and Immunolocalization of Na^+/K^+ -ATPase in The Branchiopod *Artemia salina* from The Sebkha of Sidi El Hani (Tunisia). *Tissue and Cell*. 63: 1-26.
- Ismaryani, A., Salni, Arum, S., and Triwani. 2018. Aktivitas Sitotoksik, Antiproliferasi dan Penginduksi Apoptosis Daun Salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. ex. Blume) terhadap Sel Kanker Serviks *HeLa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 16(2): 106-213.
- Jadhav, A. and Babar, V. 2021. Causes of Cancer: What to Know about Cancer. *Journal of Nuclear Medicine & Radiation Therapy*. 12(11): 1-4.
- Jeyapragash, D., Subhashini, P., Raja, S., Abirami, K., and Thandaradjou, T. 2016. Evaluation of *In-vitro* Antioxidant Activity of Seagrasses: Signals for Potential Alternate Source. *Free Rad. Antiox*. 6(1): 77-89.
- Jong, C. J., Sandal, P., and Schaffer, S. W. 2021. The Role of Taurine in Mitochondria Health: More Than Just an Antioxidant. *Molecules*: 26(16): 1-21.
- Joshua, W. J., Kamarudin, M. S., Ikhsan, N., Yusoff, F. M., and Zulperi, Z. 2022. Development of Enriched *Artemia* and *Moina* in Larviculture of Fish and Crustaceans: A Review. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 50(2): 144-157.

- Juarez, M. H., Ortega, P. T., de Torre, A. S., and Gil, E. C. 2020. Biology of the Triple-Negative Breast Cancer: Immunohistochemical, RNA, and DNA Features. *Breast Care (Basel)*: 15(3): 208-216.
- Julyasih, K. S. M. 2022. Senyawa Bioaktif Beberapa Jenis Rumput Laut dan Aktivitas Penghambatan Terhadap Jamur *Aspergillus flavus* pada Tanaman Jagung (*Zea mays* L.). *Journal Perikanan*. 12(3): 450-456.
- Kamiloglu, S., Sari, G., Ozdal, T., and Capanoglu, E. 2020. Guidelines for Cell Viability Assays. *Food Frontiers*. 1: 332-349.
- Kamran, S., Sinniah, A., Abdulghani, M. A. M., Alshawsh, M. A. 2022. Therapeutic Potential of Certain Terpenoids as Anticancer Agents: A Scoping Review. *Cancers*. 14(5): 1-46.
- Kartikasari, D., Rahman, I. R., dan Ridha, A. 2022. Uji Fitokimia pada daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) dari Kalimantan Barat. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 5(1): 35-42.
- Khan, T., Ali, M., Khan, A., Nisar, P., Jan, S. A., Afridi, S., and Shinwari, Z. K. 2019. Anticancer Plants: A Review of The Active Phytochemicals, Applications in Animal Models, and Regulatory Aspects. *Biomolecules*. 10(1): 1-30.
- Khasana, D. A., Widiastuti, E. L., Nurcahyani, N., Setyawan, A., Juliasih, N. L. G. R. 2025. Potensi Antikanker pada Ekstrak Etanol Makroalga *Caulerpa racemosa* menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Journal of Tropical Marine Science*. 8(1): 71-78.
- Kholifah, E., Nurazizah, D., and Noviyanto, F. 2023. Antioxidant Activity and Vitamin C Concentration Analysis of Gandaria (*Bouae macrophylla* Griff) Ethanol Extract using Spectrophotometry UV Vis. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*. 3(2): 54-63.
- Kleszcz, R., Celinska, A. M., Dubowska, W. B. 2023. Tannins in Cancer Prevention and Therapy. *British Journal of Pharmacology*. 182(10): 2075-2093.
- Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., Diakosavvas, M., Angelou, K., Tsatsaris, G., Pagkalos, A., Ntounis, T., and Fasoulakis. 2020. Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. *Anticancer Res*. 40(11): 6009-6015.
- Leslida, A., Kepel, R. C., Menajang, F. S. I., Kondoy, K. F. I., Lumingas, L. J. L., and Mantiri, R. O. S. E. 2024. Morphometric study of Seagrass *Enhalus acoroides* (Linnaeus f.) Royle, 1839 in Coastal Waters of Budo Village. *Jurnal Ilmiah PLATAX*. 12(2): 123-131.

- Li, H., Ruan, W. J., Liu, L. Q., Wan, H. F., Yang, X. H., Zhu, W. F., Yu, L. H., Zhang, X. L., and Wan, F. S. 2019. Impact of Taurine on The Proliferation and Apoptosis of Human Cervical Carcinoma Cells and Its Mechanism. *Chinese Medical Journal*. 132(8): 948-956.
- Lukasiewicz, S., Czezelewski, M., Forma, A., Baj, J., Sitarz, R., and Stanislawek, A. 2021. Breast Cancer – Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies – An Updated Review. *Cancers*. 13(7): 1-30.
- Mahmiah, Sa'adah, N., Sunur, H. N., dan Wijayanti, N. 2023. Profil Metabolit Ekstrak Etanol *Enhalus acoroides* (L.F.) Royle, 1839 dari Nusa Tenggara Timur. *Journal of Marine Research*. 12(1): 151-160.
- Mariconda, A., Ceramella, J., Catalano, A., Saturnino, C., Sinicropi, M. S., and Longo, P. 2025. Cisplatin, The Timeless Molecule. *Inorganics*. 13(7): 1-16.
- Meenatchi, S., Ibrahimi, S. A., Nayak, B. B., Rathinam, R. B., Paul, T. N., Seenivasan, P., Ramteke, K., Ramanan, S. S., and Anantharaja, K. 2024. A Meta-Analysis of Artemia Global Research over Seven Decades. *Journal of Coastal Research*. 40(2): 395-407.
- Mettwally, W. S. A., Salah, N. M., Elsayed, G. H., Shaffai, A. E., Yahya, S. M. M., and Mohamed, S. I. A. 2025. Cytotoxic Potential against MDA-MB-231 Breast Cancer Cells, Antidiabetic and Antioxidant Activities of Red Sea Seagrass, *Cymodocea rotundata* (E.H.) Asch. and *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle, A Comparative Biological Study with a Chemical Correlation. *Egyptian Journal of Chemistry*. 68(8): 451-464.
- Mohamed, S. I. A., Elsayed, G. H., Shaffai, A. E., Yahya, S. M., Mettwally, W. S. 2024. In-vitro Study of Cytotoxic and Apoptotic Potential of *Thalassia hemprichii* (Ehren.) Asch. and *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle against Human Breast Cancer Cell Line (MCF-7) with Correlation to their Chemical Profile. *BMC Complement Med Ther*. 24: 244.
- Mohiuddin, M. D., Kasahara, K. 2021. Cisplatin Activates The Growth Inhibitory Signaling Pathways by Enhancing The Production of Reactive Oxygen Species in Non-Small Cell Lung Cancer Carrying and EGFR Exon 19 Deletion. *Cancer Genomics Proteomics*. 18: 471-486.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Anti-Oxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2): 211-219.

- Morales-Borges, R. H., Gonzalez, M. J., Gupta, R. C., and Ayeotan, O. 2020. Taurine as Anticancer and Antiviral: Case Report and Prospective Update. *Glob J Cancer Case Rep.* 1(2): 1-13.
- Nandiyanto, A. B. D., Ragadhita, R., dan Fiandini, M. 2023. Interpretation of Fourier Transform Infrared Spectra (FTIR): A Practical Approach in The Polymer/Plastic Thermal Decomposition. *Indonesian Journal of Science & Technology.* 8(1): 113-126.
- Nerdy, N., Lestari, P., Sinaga, J. P., Ginting, S., Zebua, N. F., Mierza, V., and Bakri, T. K. 2021. Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach.) Lethality Test of Ethanolic Extract from Green Betel (*Piper betle* Linn.) and Red Betel (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) through the Soxhletation Method for Cytotoxicity Test. *J. Med. Sci.* 9(A): 407-412.
- Njus, D., Kelley, P. M., Tu, Y. J., and Schlegel, H. B. 2020. Ascorbic Acid: The Chemistry Underlying Its Antioxidant Properties. *Free Radical Biology and Medicine.* 159: 37-43.
- Nugroho, I., Putri, n., Adji, J. E. P., Nur, S. R., dan Sekarningrum, N. A. 2024. Tinjauan Kritis Kemampuan Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) dalam Analisis dan Karakterisasi Senyawa Obat. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan.* 10(15): 332-344.
- Okano, M., He, F., Ma, N., Kobayashi, H., Oikawa, S., Nishimura, K., Tawara, I., and Murata, M. 2023. Taurine Induces Upregulation of p53 and Beclin1 and has Antitumor Effect in Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells *in vitro* and *in vivo*. 2023. *Acta Histochemica.* 125(1): 1-9.
- Orno, T. G. and Rantesalu, A. 2020. In Vitro Citotoxicity Assays of Seagrass (*Enhalus acoroides*) Methanol Extract from Soropia Coastal Waters in Southeast Sulawesi Province. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology.* 2(1): 27-33.
- Pajewska, M., Partyka, O., Czerw, A., Deptala, A., Sygit, K., Gaska, I., Porada, S., Drobnik, J., Pobrotyn, P., Grata-Borkowska, U., Furtak-Pobrotyn, J., Banas, T., Malecki, K., Grochans, E., Grochans, S., Cybulska, A. M., Schneider-Matyka, D., Bandurska, E., Ciecko, W., Czerw, N., Marczak, M., Sierocka, A., and Kozlowski, R. 2025. Advanced and Metastatic Triple Negative Breast Cancer – Potential New Treatment. *Cancers.* 17(7): 1-10.
- Permana, R., Andhikawati, A., Akbarsyah, N., dan Putra, P. K. D. N. Y. 2020. Identifikasi Senyawa Bioaktif dan Potensi Aktivitas Antioksidan Lamun *Enhalus acoroides* (Linn. F). *Jurnal Akuatek.* 1(1): 66-72.
- Pharmawati, M. and Wrasati, L. P. 2020. Phytochemical Screening and FTIR Spectroscopy on Crude Extract from *Enhalus acoroides* Leaves. *Malaysian Journal of Analytical Sciences.* 24(1): 70-77.

- Pohan, D. J., Marantuan, R. S., and Djojoputro, M. 2023. Toxicity Test of Strong Drug using The BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Method. *International Journal of Health Sciences and Research*. 13(2): 203-209.
- Pont, M., Marques, M., and Sorolla, A. 2024. Latest Therapeutical Approaches for Triple-Negative Breast Cancer: From Preclinical to Clinical Research. *Int. J. Mol. Sci.* 25(24): 1-21.
- Prajoko, Y. W., Qhabibi, F. R., Gerardo, T. S., Kizzandy, K., Tanjaya, K., Willyanto, S. E., Permatasari, H. K., Surya, R., Mayulu, N., Taslim, N. A., Tjandrawinata, R. R., Syahputra, R. A., Tallei, T. E., Tsopmo, A., Kim, B., Kurniawan, R., and Nurkolis, F. 2024. Revealing Novel Source of Breast Cancer Inhibitors from Seagrass *Enhalus acoroides*: In Silico and In Vitro Studies. *Molecules*. 29(5): 1-18.
- Pratama, R., Hestianah, E. P., Widiyatno, T. V., Meles, D. K., and Kurnijasanti, R. 2021. Efek Antioksidan Taurin dalam Menurunkan Kerusakan Ginjal Mencit Jantan (*Mus musculus*) Akibat Stres Oksidatif yang Diinduksi Paraquat. *Journal of Basic Medical Veterinary*. 10(2): 51-58.
- Rachmi, E., Hasanah, N., Irawiraman, H., Nuratifah, A. P., and Nahusuly, F. 2023. Ethanol Extract of *Artocarpus odoratissimus* (Tarap) Bark Inhibit Migration of MDA-MB-231 Triple Negative Breast Cancer Cells. *Indones. J. Cancer Chemoprevent*. 14(2): 83-93.
- Rahman, S., Rahardjanto, A., dan Husamah. 2022. *Mengenal Padang Lamun (Seagrass Beds)*. Malang: Penerbit Dream Litera.
- Rais, N., Ved, A., Shadab, M., Ahmad, R., and Shahid, M. 2022. Taurine, a Non-Proteinous Essential Amino Acid for Human Body Systems: An Overview. *Arab Gulf Journal of Scientific Research*. 41(1): 48-66.
- Rajabi, S., Ramazani, A., Hamidi, M., and Naji, T. 2015. *Artemia salina* as a Model Organism in Toxicity Assessment of Nanoparticles. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 23(20): 1-6.
- Ramadhan, R., Dirgayusa, I. G. N. P., dan Faiqoh, E. 2021. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Lamun *Halophila ovalis* di Perairan Pantai Karma dan Pantai Serangan, Bali. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*. 7(2): 140-147.
- Ranasinghe, R., Mathai, M. L., and Zulli, A. 2022. Cisplatin for Cancer Therapy and Overcoming Chemoresistance. *Heliyon*. 8: 1-17.
- Rawung, S., Tilaar, F. F., Rondonuwu, A. B. 2018. Inventarisasi Lamun di Perairan Marine Field Station Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

- Unsrat Kecamatan Likupang Timur Kabupaten Minahasa Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*. 6(2): 38-45.
- Rein, M. J., Renouf, M., Hernandez, C. C., Goretta, L. A., Thakkar, S. K., and Pinto, M. D. S. 2013. Bioavailability of Bioactive Food Compounds: A Challenging Journey to Bioefficacy. *Br J Clin Pharmacol*. 75(3): 588-602.
- Sami, F. J., Nur, S., Sapra, A., dan Libertin. 2020. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Lamun (*Enhalus acoroides*) Asal Pulau Lae-Lae Makassar Terhadap Radikal ABTS. *Media Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar*. XV(2): 116-120.
- Setianingsih, N. L. P. P., Singapurwa, N. M. A. S., Arygunartha, G. Y., Djelantik, S. A. M. A. P., and Winduyasa, I. W. 2023. Environmental Health Risk Analysis of Legundi Leaf Essential Oil Toxicity (*Vitex trifolia* L.). *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 15(1): 67-75.
- Shaffai, A. E., Mettwally, W. S. A., and Mohamed, S. I. A. 2023. A Comparative Study of The Bioavailability of Red Sea Seagrass, *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle (Leaves, Roots, and Rhizomes) as Anticancer and Antioxidant with Preliminary Phytochemical Characterization using HPLC, FT-IR, and UPLC-ESI-TOF-MS Spectroscopic Analysis. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 12(41): 1-12.
- Shafiee, M. A. M., Asri, M. A. M., and Alwi, S. S. S. 2021. Review on The *In Vitro* Cytotoxicity Assessment in Accordance to The International Organization for Standardization (ISO). *Mal J Med Health Sci*. 17(2): 261-269.
- Shah, S., Narang, R., Singh, V. J., Pilli, G., and Nayak, S. K. 2023. A Review on Anticancer Profile of Flavonoids: Sources, Chemistry, Mechanisms, Structure-Activity Relationship and Anticancer Activity. *Current Drug Research Reviews*. 15(2): 122-148.
- Siddique, I. M. 2024. Exploring Functional Groups and Molecular Structures: A Comprehensive Analysis using FTIR Spectroscopy. *Chemistry Research Journal*. 9(2): 70-76.
- Smith, M. T., Guyton, K. Z., Gibbons, C. F., Fritz, J. M., Portier, C. J., Rusyn, I., DeMarini, D. M., Caldwell, J. C., Kavlock, J. R., Lambert, P. F., Hecht, S. S., Bucher, J. R., Stewart, B. W., Baan, R. A., Coglian, V. J., and Straif, K. 2016. Key Characteristic of Carcinogens as a basis for Organizing Data on Mechanisms of Carcinogenesis. *Environmental Health Perspective*. 124(6): 713-721.
- Souhoka, F. A., Hattu, N., and Huliselan, M. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana* L.) *Indo. J. Chem. Res*. 7(1): 25-31.

- Starek-Swiechowicz, B., Budziszewska, B., and Starek, A. 2021. Endogenous Estrogens – Breast Cancer and Chemoprevention. *Pharmacological Reports*. 73: 1497-1512.
- Stary, D. and Bajda, M. 2023. Taurine and Creatine Transporters as Potential Drug Targets in Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 24(4): 1-20.
- Sugrani, A., Taufiq, N., Khatimah, Q. K., Patanduk, V. T., and Pakayya, S. W. 2024. Toxicity Test of Primary and Secondary Metabolite Extracts on *Caulerpa* so. Which Cultivated by The Community of The District Takalar. *International Journal of Health and Pharmaceutical*. 4(3): 537-540.
- Suneka, S. and Manoranjan, T. 2021. Brine Shrimp Lethality Assay with Selected Medicinal Plants Extracts. *Vingnanam Journal of Science*. 16(2): 14-17.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., and Bray, F. 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 71(3): 209-249.
- Surai, P. F., Payne, K. E., and Kidd, M. T. 2021. Taurine as a Natural Antioxidant: From Direct Antioxidant Effects to Protective Action in Various Toxicological Models. *Antioxidants (Basel)*. 10(12): 1-37.
- Surarak, T., Chantree, P., Sangpairoj, K. 2021. Synergistic Effects of Taurine and Temozolomide Via Cell Proliferation Inhibition and Apoptotic Induction on U-251 MG Human Glioblastoma Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 22: 4001-4009.
- Susanto, A., Ratnaningtyas, N. I., Ekowati, N. 2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tubuh Buah Jamur Paha Ayam (*Coprinus comatus*) dengan Pelarut Berbeda. *Majalah Ilmiah Biologi Bisfera: A Scientific Journal*. 35(2): 63-68.
- Syamsu, R. F., dan Rachman, M. E. 2023. Uji Aktivitas Antioksidan Etanol Buah Tin (*Ficus carica*) dengan Metode DPPH dan FRAP. *As-Syifa Jurnal Farmasi*. 15(1): 79-86.
- Tchounwou, P. B., Dasari, S., Noubissi, F. K., Ray, P., and Kumar, S. 2021. Advances in Our Understanding of The Molecular Mechanisms of Action of Cisplatin in Cancer Therapy. *J Exp Pharmacol*. 13: 303-328.
- Tega, Y., Kawauchi, Y., Akanuma, S. I., Inagaki, M., Tachikawa, M., and Hosoya, K. I. 2025. *In Vitro* Characterization of Taurine Transport using The Human Brain Microvascular Endothelial Cell Line as a Human Blood-Brain Barrier Model. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 61: 1-7.

- The Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141, 399-436.
- Tuapattinaya, P. M. J. dan Rumahlatu, D. 2019. Analysis of Flavonoid Levels of *Enhalus acoroides* in Different Coastal Waters in Ambon Island, Indonesia. *International Journal of Applied Biology*. 3(1): 70-80.
- Uyanga, V. A., Oke, E. O., Amevor, F. K., Zhao, J., Wang, X., Jiao, H., Onagbesan, O. M., and Lin, H. 2022. Functional Roles of Taurine, L-theanine, L-citrulline, and Betaine during Heat Stress in Poultry. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 13(23): 1-20.
- Vakili, S. A., George, A., Ayatollahi, S. A., Martorell, M., Ostrander, E. A., Salehi, B., Martins, N., and Rad, J. S. 2020. Phenolic Compounds, Saponins and Alkaloids on Cancer Progression: Emphasis on p53 Expression and Telomere Length. *Cell Mol Biol*. 66(4): 110-119.
- Walliullah, S., Srivastava, R. N., Ara, Z., Khan, A., Pant, S., Garg, R. K., Mahdi, A. A., and Rastogi, D. 2023. Taurine, A Wonderful Molecule: A Review Article. *Saudi Journal of Medicine*. 8(6): 332-337.
- Wein, L. and Loi, S. 2017. Mechanisms of Resistance of Chemotherapy in Early-Stage Triple Negative Breast Cancer (TNBC). *Breast*. 34(1): 27-30.
- Wicaksana, I. K. D., Roiyan, K., Aini, D., Amani, S., Wulandari, W., Fardiaz, M. A., and Hasina, R. 2023. Acute Toxicity Test of Anthelmintic Herbal on *Artemia salina* Larvae. *J Pijar MIPA*. 18(5): 777-781.
- Widiastuti, E. L., Istikomah, E. A. L., Barliana, M. I., Nurcahyani, N., and Setyaningrum, E. 2024. Cytotoxic and Antiproliferative Testing of *HeLa* Cervical Cancer Cells using Seagrass Ethanolic Extraction (*Cymodocea rotundata* and *Enhalus acoroides*). *Biomedical & Pharmacology Journal*. 17(1): 253-262.
- Widiastuti, E. L., Rima, K., and Busman, H. 2019. Anticancer Potency of Seagrass (*Enhalus acoroides*) Methanol Extract in the *HeLa* Cervical Cancer Cell Culture. *Proceedings of the International Conference on Sustainable Biomass* (ICSB 2019). *Advances in Engineering Research*. 202: 1-5.
- Widyasari, R., Yuspitasi, D., Wildaniah, W., dan Wahida, R. C. 2018. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus macrocarpa* Bunge) Terhadap Larva *Artemia salina* L. dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Medical Sains*. 3(1): 51-58.
- Windyaswari, A. S., Purba, J. P., Nurrahmah, S. S., Ayu, I. P., Imran, Z., Amin, A. A., Kurniawan, F., Pratiwi, N. T. M., and Iswantari, A. 2019.

Phytochemical profile of sea grass extract (*Enhalus acoroides*): A new marine source from Ekas Bay, East Lombok. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 278: 1-9.

Xu, H., Bai, Q., Wang, H., Zhao, J., Guo, A., Li, R., Chen, Q., Wei, Y., Li, N., Huang, Z., and Zhao, Y. 2025. Structural Characterization Reveals Substrate Recognition by The Taurine Transporter TauT. *Cell Discovery*. 28: 1-4.

Yamauchi, M., Kitamura, Y., Nagano, H., Kawatsu, J., and Gotoh, H. 2024. DPPH Measurements and Structure – Activity Relationship Studies on The Antioxidant Capacity of Phenols. *Antioxidants*. 13(3): 1-16.

Zamay, T. N., Zmay, S. S., Zmay, G. S., Kolovskaya, O. S., Kichkailo, A. S., and Berezvoski, M. V. 2025. Systemic Mechanisms of Ionic Regulation in Carcinogenesis. *Cancers*. 17(2): 1-19.

Zhou, S., Zhao, Z., Wang, Z., Xu, H., Li, Y., Xu, K., Li, W., and Yang, J. 2025. Cancer-associated fibroblasts in carcinogenesis. *Journal of Translational Medicine*. 23(50): 1-14.

Zurba, N. 2018. *Pengenalan Padang Lamun, Suatu Ekosistem yang Terlupakan*. Lhokseumawe: Unimal Press.